



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25404

To cite this version:

Fluck, Alexia[✉] and Laporte, Joëlle[✉]. *Évaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans cinq élevages ovins allaitants de la région Provence Alpes Côte d'Azur*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 94 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

EVALUATION DE LA RÉSISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX AUX ANTHELMINTHIQUES DANS CINQ ÉLEVAGES OVINS ALLAITANTS DE LA RÉGION PROVENCE ALPES CÔTE D'AZUR

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

FLUCK Alexia Née, le 25/11/1991 à STRASBOURG (67)
ET
LAPORTE Joëlle Née, le 14/11/1991 à BRIVE-LA-GAILLARDE (19)

Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :
M. Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :
M. Philippe JACQUIET
M. Renaud MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme	CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N° 8
M.	CONCORDET Didier	3
M.	DELVERDIER Maxence	7
M.	ENJALBERT Francis	6
M.	PETIT Claude	1
M.	SCHELCHER François	8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M	BAILLY Jean-Denis	4
M.	BERTAGNOLI Stéphane	1
M.	BERTHELOT Xavier	6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain	7
M.	BRUGERE Hubert	10
Mme	CADIERGUES Marie-Christine	8
Mme	CHASTANT-MAILLARD Sylvie	6
M.	DUCOS Alain	6
M.	FOUCRAS Gilles	8
Mme	GAYRARD-TROY Véronique	7
M	GUERIN Jean-Luc	6
Mme	HAGEN-PICARD Nicole	6
M.	JACQUIET Philippe	8
M.	LEFEBVRE Hervé	7
M.	MEYER Gilles	8
M.	SANS Pierre	6
Mme	TRUMEL Catherine	7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme	BOULLIER Séverine	1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie	7
M.	GUERRE Philippe	7
Mme	LACROUX Caroline	7
M.	MAILLARD Renaud	8
M	MOGICATO Giovanni	7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle	7

PROFESSEUR CERTIFIÉ (P.C.E.A.)

Mme	MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais
M.	SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M.	BERGONIER Dominique	6
Mme	DIQUELOU Armelle	8
M.	JAEG Jean-Philippe	7
M.	JOUGLAR Jean-Yves	8
M.	LYAZRHI Faouzi	3
M.	MATHON Didier	8
Mme	MEYNADIER Annabelle	6
Mme	PRIYMENKO Nathalie	6
M.	RABOISSON Didier	6
M	VERWAERDE Patrick	8
M.	VOLMER Romain	1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M.	ASIMUS Erik	8
Mme	BENNIS-BRET Lydie	7
Mme	BIBBAL Delphine	4
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle	1
Mme	BOUHSIRA Emilie	8
M	CONCHOU Fabrice	8
M	CORBIERE Fabien	8
M.	CUEVAS RAMOS Gabriel	8
Mme	DANIELS Hélène	1
Mme	DAVID Laure	4
Mlle	DEVIERS Alexandra	7
M.	DOUET Jean-Yves	8
Mme	FERRAN Aude	7
Mme	LALLEMAND Elodie	8
Mme	LAVOUE Rachel	8
M.	LE LOC'H Guillaume	8
M	LIENARD Emmanuel	8
Mme	MILA Hanna	6
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia	8
M.	NOUVEL Laurent	6
Mme	PALIERNE Sophie	8
Mme	PAUL Mathilde	6
M.	VERGNE Timothée	7
Mme	WARET-SZKUTA Agnès	6

A.E.R.C. (6)

Mme	BLONDEL Margaux	8
M.	CARTIAUX Benjamin	7
M.	COMBARROS-GARCIA Daniel	8
Mme	COSTES Laura	4
M.	GAIDE Nicolas	7
M.	JOUSSERAND Nicolas	8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme	DORE-BORDE Laura	8
M.	LEYNAUD Vincent	8

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Gérard CAMPISTRON

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Physiologie-Hématologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Nos sincères remerciements et nos hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Parasitologie et Maladies parasitaires – Zoologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse et pour nous avoir proposé ce sujet. Qu'il trouve ici nos sincères remerciements pour sa disponibilité, son aide précieuse et sa pédagogie lors de ce travail comme durant les cinq années de formation au métier de vétérinaire.

Profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Renaud MAILLARD

Enseignant-chercheur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Maître de conférences, pathologie des ruminants

Qui nous a fait l'honneur de prendre part à notre jury de thèse

Sincères remerciements.

A Fanny Bastien

Vétérinaire praticienne

Merci pour ton aide sur le terrain pour l'organisation des expériences, la collecte des échantillons mais aussi lorsque l'on a rencontré des problèmes techniques

Aux éleveurs

*Merci d'avoir participé à cette étude et du temps consacré pour les manipulations des brebis,
ainsi que leur accueil chaleureux*

Table des matières

REMERCIEMENTS	5
INTRODUCTION	15
1 ETUDE DU TERRITOIRE PACA, OBJECTIF DE L'ÉTUDE	17
1.1 Présentation du territoire PACA	17
1.2 Objectif de l'étude	18
2 PRÉSENTATION DES STRONGYLOSES DIGESTIVES CHEZ LES OVINS	21
2.1 Généralités sur les strongles gastro-intestinaux	21
2.1.1 Classification des strongles	21
2.1.2 Morphologie	22
2.1.3 Cycle biologique	23
2.1.4 Facteurs de survie	24
2.2 Pathogénicité	25
2.2.1 Mécanismes physiopathologiques	25
2.2.2 Signes cliniques	26
2.2.3 Impact économique	28
2.2.4 Lésions	28
2.3 Diagnostic	29
2.3.1 Clinique	29
2.3.2 Diagnostic de laboratoire	32
2.4 Traitement avec des anthelminthiques	38
2.4.1 Molécules courantes	38
2.4.2 Nouvelles molécules	40
2.5 Solutions alternatives et complémentaires aux molécules chimiques	41
2.5.1 Méthodes basées sur l'amélioration de l'immunité de l'hôte	41

2.5.2	Méthodes basées sur la gestion de la pâture	42
2.5.3	Méthodes basées sur un usage raisonné des anthelminthiques	43
2.5.4	Méthodes basées sur d'autres molécules ou principes actifs que les traitements conventionnels	43
3	LA RÉSISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES	45
3.1	Facteurs favorisants	46
3.1.1	La fréquence d'utilisation d'un anthelminthique	46
3.1.2	Le pâturage mixte	46
3.1.3	La taille des troupeaux	47
3.1.4	Le sous-dosage	47
3.1.5	La rémanence des molécules	47
3.1.6	Le traitement systématique et non-sélectif ou "Drench-and-Shift"	47
3.1.7	L'introduction d'individus résistants dans l'élevage	48
3.1.8	L'utilisation des médicaments à large spectre	48
3.2	Mécanismes de résistance	48
3.2.1	Résistance aux Benzimidazoles	48
3.2.2	Résistance aux Imidazothiazoles	49
3.2.3	Résistance aux Lactones macrocycliques	49
3.2.4	Résistance au Salicylanides	50
3.2.5	Résistance aux Dérivés amino-acétonitriles	50
3.3	Méthodes de détection de résistances	51
3.3.1	Méthodes <i>in vivo</i>	51
3.3.2	Méthodes <i>in vitro</i>	53
4	EVALUATION DE LA RÉSISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX CHEZ LES OVINS EN RÉGION PACA	55
4.1	Matériels et méthodes	55
4.1.1	Protocole	55
4.1.2	Choix des élevages	55
4.1.3	Choix des animaux	56
4.1.4	Prélèvements des selles et traitement des brebis	59
4.1.5	Analyses coprologiques et calcul du FECR	59

4.1.6	Coprocultures de mélange	61
4.1.7	Amplification de l'ADN des larves par PCR temps réel	61
4.2	Résultats	63
4.2.1	Réductions des intensités d'excrétion fécale après traitement (FECR) . .	63
4.2.2	Identification des espèces de strongles digestifs présentes avant et après traitement	65
4.3	Discussion	69
4.3.1	Etat des lieux à J0 de la population parasitaire	69
4.3.2	Efficacité des anthelminthiques dans les cinq élevages étudiés	69
4.3.3	Limites de l'étude	72
CONCLUSION		73
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		75
ANNEXES		83

Table des figures

1.1	Les transhumances ovines en région PACA (https://cerpam.com/les-transhumances/)	17
2.1	Oeufs de strongles digestifs, seul l'oeuf de <i>Nematodirus</i> au centre peut être identifié avec certitude, les autres oeufs (en périphérie) peuvent provenir de plusieurs genres différents (Photo P. Jacquet, ENV Toulouse)	22
2.2	Cycle de développement des strongles gastro-intestinaux (d'après le cours de parasitologie de l'ENVT)	23
2.3	Optima de développement des stades larvaires (O'Connor et al. 2006)	25
2.4	<i>Haemonchus contortus</i> adultes dans la caillette (http://www.scaprin26.com/site_content/14-maladies/65-le-parasitisme-interne-caprins)	29
2.5	Lésions de la caillette due à l'Haemonchose (Mage, 1998)	29
2.6	Echelle FAMACHA (CEPOQ, Page consultée le 20 août 2018)	31
2.7	Grille de notation de l'état corporel d'une brebis (CEPOQ, Page consultée le 20 août 2018)	32
2.8	Echelle de notation du dag-score (Bonnetfont et Canellas, 2014).	32
2.9	Méthode de coproscopie (d'après Bonnetfont et Canellas, 2014).	33
2.10	Schéma d'une lame de McMaster (Bonnetfont et Canellas, 2014).	33
2.11	Méthode de la coproscopie de mélange (Eichstadt, 2017).	34
2.12	Valeurs seuils d'un résultat coprologique chez les petits ruminants (Cours de parasitologie de l'ENVT)	34
2.13	Schéma d'une larve de nématode (a = longueur totale, b = extrémité caudale, c = extension caudale de la gaine, d = filament) (Van Wyk et Mayhew, 2013). . .	35
2.14	Extrémité caudale de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> (a) et de <i>Teladorsagia circumcincta</i> (b)	36
4.1	Carte des élevages et des zones de transhumance	58

4.2	Répartition des différentes espèces de strongles dans les élevages à J0	66
4.3	Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 1	66
4.4	Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 2	67
4.5	Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 3	67
4.6	Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 4	67
4.7	Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 5	68

Liste des tableaux

2.1	Caractéristiques des 3 principales espèces de nématodes	22
4.1	Caractéristiques des élevages de l'étude, (*) à base de Mérinos, Ile de France, Romane, Thones et Marthod, Charolais, Bérichon du Cher	57
4.2	Doses administrées aux animaux dans chaque élevage	60
4.3	FECR et intervalles de confiance à 95% des lots étudiés, "n" correspond au nombre d'animaux ayant un FEC supérieur ou égal à 150 opg à J0 et ayant été pris en compte dans les calculs	64
4.4	Etat des lieux à J0 de la présence des différentes espèces de SGI dans les élevages de l'étude (HC = <i>Haemonchus contortus</i> , Tela = <i>Teladorsagia circumcincta</i> , Tricho = <i>Trichostrongylus colubriformis</i>)	65

INTRODUCTION

Les parasites permettent de réguler les populations animales en sélectionnant les individus les plus robustes. Néanmoins, avec le développement de l'élevage par l'homme, ils sont aujourd'hui surtout la cause de pertes économiques importantes dans les filières de production voire de mortalité. Ceci est dû à la forte concentration d'animaux sur de petites surfaces, ainsi qu'à l'amélioration génétique des animaux vers des paramètres de production au détriment de la robustesse, notamment de la résistance aux maladies comme les parasitoses. C'est pourquoi des moyens de lutte ont été mis en place afin de préserver la pérennité de nos systèmes de production animale. Dans la filière ovine, les strongles gastro-intestinaux (SGI) entraînent des pertes de production majeures ainsi que parfois, des mortalités.

Les premiers traitements anthelminthiques chimiques ont été développés dans les années 1960. Leur utilisation a d'abord permis de relancer la filière de production mais leur utilisation excessive a fait émerger des résistances, qui sont devenues à l'heure actuelle des sources de préoccupations majeures pour l'avenir de la production. Afin d'apporter des réponses à ce problème, de nouvelles molécules ont été découvertes dans les années 1980 puis 2000, mais cela n'a pas été accompagné d'un changement dans les pratiques de traitements : de nouvelles résistances sont alors apparues. Des initiatives pour utiliser des méthodes alternatives aux traitements chimiques ont été prises mais de nombreux travaux sont encore à faire avant de voir leur utilisation pratique sur le terrain se généraliser.

La présente étude présente une enquête sur la résistance aux anthelminthiques dans cinq élevages ovins de la région PACA. Nous allons tout d'abord présenter la région dans laquelle elle a été effectuée ainsi que l'intérêt qu'il en découle. Puis un rappel des caractéristiques des SGI et des mécanismes de résistance aux anthelminthiques sera abordé. Et pour finir nous détaillerons les résultats de nos enquêtes ainsi que les discussions qu'elles amènent.

Chapitre 1

ETUDE DU TERRITOIRE PACA, OBJECTIF DE L'ÉTUDE

1.1 Présentation du territoire PACA



FIGURE 1.1 – Les transhumances ovines en région PACA ([https ://cerpam.com/les-transhumances/](https://cerpam.com/les-transhumances/))

Une pratique très fréquente dans cette région pour la gestion du troupeau d'ovins est la

transhumance, c'est à dire la migration périodique du bétail (bovidés, équidés et ovins) entre les pâturages d'hiver et les pâturages d'été. Cela peut permettre d'économiser du fourrage et donc de faire des économies pour l'éleveur, mais elle permet aussi d'entretenir les paysages et d'éviter l'embroussaillage des zones de montagne. Aujourd'hui il existe une forte organisation collective où près d'un alpage sur deux est géré collectivement par les éleveurs.

Le domaine pastoral de la région PACA couvre 1,1 million d'hectares dans le massif alpin, répartis en 680 000 hectares d'alpages et 450 000 hectares de zones pastorales. Dans les alpages de la région PACA, on dénombre 92 000 bovins, représentant 28% du cheptel bovin du massif Alpin. 780 000 ovins sont recensés, soit les trois-quarts du cheptel ovin de la région PACA, mais aussi 15 000 caprins et plus de 2 000 équins.

De plus, on compte 800 alpages pour les ovins, soit un tiers des alpages utilisés dans le massif alpin, principalement dans les départements des Hautes Alpes (05), de Savoie (73), des Alpes-de-Haute-Provence (04) et de Haute-Savoie (74). En moyenne, par alpage, on dénombre près de 1 000 ovins et 540 hectares. Les troupeaux de plus de 1 000 ovins représentent 80% du cheptel estivé alors que les troupeaux de moins de 300 ovins n'en représentent que 3%. De plus, les troupeaux de plus de 1 000 bêtes occupent la moitié des alpages alors que ceux de moins de 300 bêtes n'en occupent qu'un sur 5. On peut donc observer que la majorité des troupeaux qui estivent sont des troupeaux de grande taille. En terme de dynamique, les effectifs ovins de la région PACA ont diminué de 7% entre 1996 et 2014, surtout dans le Sud du massif alpin. Cette diminution provient surtout de la forte régression du cheptel estivé d'origine locale. Cependant, l'effectif moyen estivé en alpage, qui était de 900 ovins en 1996, a augmenté de 4% (L'enquête Pastorale 2012-2014, page consultée le 07 Septembre 2018).

Si on compare les départements en termes d'effectifs estivés, trois départements se détachent nettement (L'enquête Pastorale 2012-2014, page consultée le 07 Septembre 2018) :

- les Hautes-Alpes au 1er rang des effectifs ovins estivés (169 000 ovins),
- les Bouches-du-Rhône (162 000 ovins transhumants),
- les Alpes de Haute Provence (146 000 ovins) avec une dominante d'animaux transhumants originaires du département.

1.2 Objectif de l'étude

La résistance aux anthelminthiques des strongles digestifs chez les ovins est de plus en plus fréquente dans le monde. Si elle est bien connue dans certains pays comme le Royaume-Uni,

les Etats Unis ou l'Australie, elle l'est beaucoup moins en France. Aujourd'hui, le contrôle des strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants passe essentiellement par l'utilisation des anthelminthiques, il est donc important de savoir évaluer la présence de résistance au sein des populations de strongles. En effet, connaître l'efficacité des différentes classes d'anthelminthiques permet de mieux conseiller les éleveurs sur les traitements à réaliser.

Plusieurs enquêtes ont été réalisées en France, à partir des années 90 afin de réaliser un état des lieux de la présence de résistance aux anthelminthiques en France. Une étude dans les élevages ovins allaitants des Deux-Sèvres a montré la présence de résistance aux benzimidazoles et une forte progression de la résistance au lévamisole (Chartier et al., 2001). Une étude sur des élevages de l'Aveyron et des Pyrénées Atlantiques a montré des résistances au fenbendazole et au néobimin (Geurden et al., 2014). D'autres études ont été réalisées dans le Limousin, en Bourgogne, dans les Vosges et ont confirmé l'extension de la résistance aux benzimidazoles (Jacquiet et al, 2014).

Aucune étude n'a été réalisée dans les élevages ovins de la région PACA afin de déterminer la présence de résistance aux anthelminthiques. Pourtant cette région est un des bassins d'élevages ovins allaitants en France, où il serait donc intéressant de réaliser un état des lieux. Cette étude a ainsi pour objectif d'évaluer l'efficacité de 3 molécules couramment utilisées (Fenbendazole, ivermectine, moxidectine) et de détecter l'éventuelle présence de résistance à ces molécules.

Chapitre 2

PRÉSENTATION DES STRONGYLOSES DIGESTIVES CHEZ LES OVINS

2.1 Généralités sur les strongles gastro-intestinaux

2.1.1 Classification des strongles

Les helminthes parasites du tube digestif sont regroupés en trois types : les Cestodes et les Trématodes, appelés communément les vers “plats”, et les Nématodes qui sont les vers “ronds”.

Ceux qui vont nous intéresser ici sont appelés Strongles Gastro-intestinaux (SGI). Les SGI sont des nématodes de l'ordre des Strongylida.

Cet ordre est divisé en 2 super-familles (Jacquet 1997) :

- Les Trichostrongyloidae : ce sont les plus pathogènes pour les petits ruminants. Il existe de nombreux genres au sein de cette super-famille tels que *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia* et *Cooperia*,
- Les Strongyloidae : ils ont une pathogénicité plus faible que la super-famille précédente. Les genres *Chabertia* et *Oesophagostomum* la composent entre autres.

Les principales espèces de strongles digestifs, tant par leur grande fréquence lors d'infestations que par leur importance chez les ovins sont *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*. Parmi ceux-ci, le plus pathogène pour les ovins est *H. contortus*.

Leur distribution est mondiale avec des prédominances de certaines espèces selon les zones climatiques.

2.1.2 Morphologie

Les oeufs des strongles digestifs sont morphologiquement très semblables sauf pour le genre Nematodirus qui présente des oeufs de plus grande taille que les autres genres. Ils sont de forme ellipsoïde et mesurent en moyenne de 80 à 100 μm de long (jusqu'à 140 μm pour Nematodirus). Leur paroi est mince et contient une morula (Figure 2.1).



FIGURE 2.1 – Oeufs de strongles digestifs, seul l’oeuf de Nematodirus au centre peut être identifié avec certitude, les autres oeufs (en périphérie) peuvent provenir de plusieurs genres différents (Photo P. Jacquet, ENV Toulouse)

Les strongles adultes n’ont pas la même morphologie selon l’espèce, ces différences sont résumées dans le tableau 2.1 ci-dessous.

	<i>Haemonchus contortus</i>	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
Taille femelle	18-30 mm	8-10 mm	5.5-7.5 mm
Taille mâle	10-20 mm	6-8 mm	4-5.5 mm
Couleur	Rougeâtre	Brun-rougeâtre	Noir
Localisation chez l’hôte	Caillette	Caillette	Intestin grêle
Régime alimentaire	Hématophage	Histophage et hémato-phage	Chymivore
Importance en France	++++	+++	+++

TABLE 2.1 – Caractéristiques des 3 principales espèces de nématodes

2.1.3 Cycle biologique

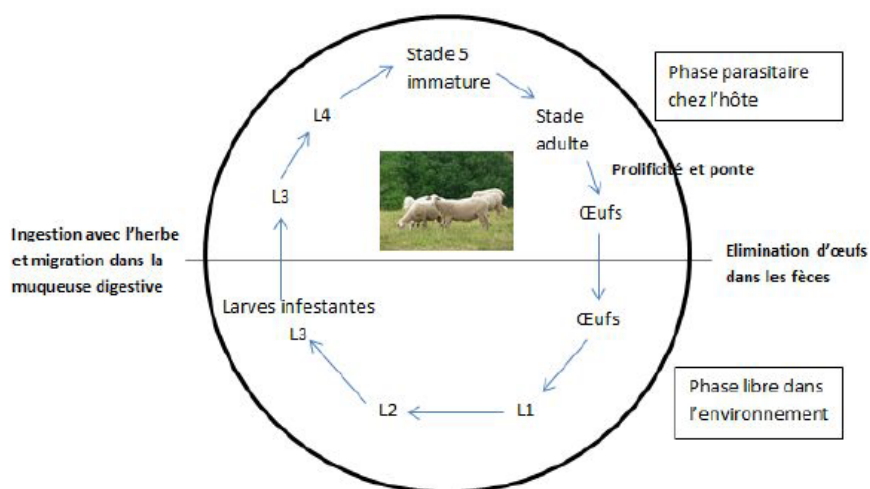


FIGURE 2.2 – Cycle de développement des strongles gastro-intestinaux (d'après le cours de parasitologie de l'ENVT)

Le cycle biologique des strongles digestifs est monoxène, c'est à dire que ces parasites n'ont besoin que d'un seul hôte, appelé hôte définitif, durant leur cycle biologique qui dure 1 à 2 mois. Ce cycle est découpé en deux phases : une phase exogène où le parasite est dans l'environnement et une phase endogène où le parasite investit le tube digestif de l'animal. Les larves infestantes doivent être ingérées pour infester l'animal et sont uniquement présentes dans l'herbe, elles ne peuvent pas se développer en bergerie ou en stabulation car les conditions d'ambiance y sont défavorables, d'où le terme de « pathologie liée au pâturage » pour caractériser les strongyloses gastro-intestinales.

Lors de la phase endogène, ce qui correspond à la partie du cycle où le parasite est dans l'hôte, les ruminants se contaminent en ingérant les larves L3. Ces larves passent dans le tube digestif de l'hôte, perdent leur gaine de la L2 dans l'organe situé juste en amont de leur organe cible puis migrent dans les muqueuses digestives de l'organe cible. Les L3 poursuivent ensuite leur développement en L4, puis regagnent la lumière du tube digestif, où elles se transforment en immatures puis en adultes mâles ou femelles. Ceux-ci se reproduisent et vont pondre des oeufs. *Haemonchus contortus* est une espèce très prolifique (5000 oeufs/femelle/jour) dont la survie des adultes peut durer de 4 à 6 mois. *Trichostrongylus colubriformis* est une espèce peu prolifique (100 oeufs/femelle/jour) dont la survie des adultes dure environ 1 an. La durée entre l'ingestion et la ponte des oeufs est d'environ 3 semaines. Les oeufs sont émis dans le milieu extérieur via

les fèces.

On peut avoir une inhibition du développement du stade larvaire 4 dans les glandes de la caillette de l'hôte pendant plusieurs mois, c'est le phénomène d'hypobiose. Ce phénomène a lieu en hiver et concerne surtout *Teladorsagia circumcincta* et *Haemonchus contortus* (Cours de parasitologie de l'ENVT).

Lors de la phase exogène, les oeufs éclosent dans les fèces en 12 à 24 heures pour donner des larves L1, L2 puis L3 par mues successives. La larve L1 se nourrit et accumule des réserves dans les matières fécales puis mue en L2, 30 à 60 heures après l'éclosion. La larve L2 est très active dans les matières fécales, s'y nourrissant et accumulant énormément de réserves. C'est un stade très fragile dans l'environnement. Elle mue en L3, 4 à 5 jours après l'éclosion. La larve L3 reste protégée à l'intérieur de la gaine de la L2. Elle ne se nourrit pas mais se déplace en effectuant une migration horizontale pour s'écarter des matières fécales et migrer dans l'herbe avoisinante afin d'être ingérée par son hôte. Elle effectue ensuite un mouvement vertical sur l'herbe en s'aidant du film de rosée.

2.1.4 Facteurs de survie

La survie des larves dans l'environnement est conditionnée par plusieurs facteurs comme la température, l'humidité et l'oxygénation.

Température

Haemonchus contortus :

L'optimum de développement des stades larvaires est de 30°C, mais en plus d'une température élevée, ce parasite a besoin d'une forte humidité dans les premiers jours de son développement sur un pâturage. C'est donc l'espèce de nématode la plus importante dans les régions tropicales et subtropicales. La forte présence d' *H. contortus* en France est attribuée à sa faculté à se mettre en hypobiose, c'est-à-dire à stopper le développement au stade L4 après l'ingestion des L3 pour survivre aux hivers froids (O'Connor et al. 2006).

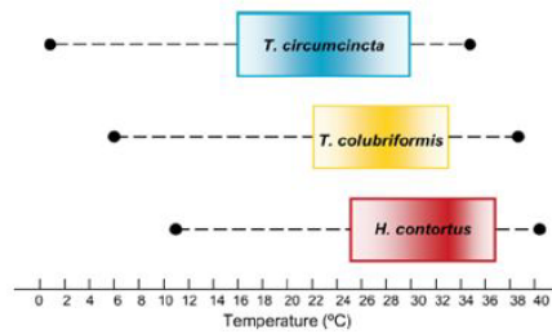


FIGURE 2.3 – Optima de développement des stades larvaires (O'Connor et al. 2006)

Teladorsagia circumcincta et *Trichostrongylus colubriformis* :

L'optimum de développement des stades larvaires de *Teladorsagia circumcincta* est de 20-22°C et celui de *Trichostrongylus colubriformis* est de 26°C (O'Connor et al., 2006). Ce sont les parasites principaux des régions tempérées. Ils possèdent une meilleure résistance à la dessiccation et peuvent se développer à des températures plus basses que *Haemonchus contortus* (O'Connor et al. 2006).

Humidité

L'humidité est importante pour le développement des stades larvaires surtout pour l'espèce *Haemonchus contortus*. Même si les fèces se dessèchent à l'extérieur, ils peuvent rester humides à l'intérieur pendant plusieurs jours rarement plusieurs semaines chez les petits ruminants, permettant ainsi la survie des larves.

Oxygénation

C'est un paramètre important, une oxygénation insuffisante (comme dans les litières) ne permet pas le développement des stades libres. Le piétinement des fèces, leur traitement par diverses espèces coprophages comme les bousiers permet leur oxygénation.

2.2 Pathogénicité

2.2.1 Mécanismes physiopathologiques

Le rôle pathogène des nématodes gastro-intestinaux est lié à des actions traumatiques, chimiques, spoliatrices ou bien antigéniques :

— Action traumatique :

La présence des vers entraîne des lésions des muqueuses de la caillette ou de l'intestin. Les

vers hématophages comme *Haemonchus contortus* provoquent la rupture des vaisseaux sanguins avec leur lancette buccale. Les espèces chymivores s'enfoncent entre les villosités et dans les cryptes glandulaires ce qui entraîne leur abrasion. Ceci entraîne une diminution de l'activité enzymatique par fuite plasmatique de protéines. Dans la caillette, la présence des vers entraîne la destruction des cellules de la muqueuse permettant de réguler le pH, d'où une augmentation du pH. Il y a également une altération de la motricité digestive. Tous ces éléments entraînent une malabsorption.

— Action chimique :

Les vers sécrètent dans leur environnement des protéases qui seraient également impliquées dans les lésions de la paroi digestive. Ces enzymes interviendraient dans l'installation des larves L3 chez l'hôte, leur développement, leur nutrition et leur reproduction. Par exemple, *Haemonchus contortus* sécrète la phospholipase C et des peptidases qui provoquent la lyse cellulaire et la digestion des protéines sanguines.

— Action spoliatrice :

Chez *H. contortus*, la spoliation sanguine est observée dès le stade L4. Les ponctions répétées et le saignement digestif entraînent la diminution des réserves de fer de l'organisme et donc une incapacité des organes hématopoïétiques à régénérer l'anémie. De plus, les protéases sécrétées ont une action anticoagulante et thrombolytique qui empêche l'arrêt des saignements.

— Action antigénique :

Les antigènes parasitaires sont essentiellement issus de la perte de la gaine des L3 et des mues successives. La réaction de l'organisme de l'hôte à ces antigènes peut être exacerbée et aboutir à des phénomènes inflammatoires nocifs plus ou moins étendus (Lefèvre, Blancou, Chermette 2003).

2.2.2 Signes cliniques

Haemonchus contortus

Les signes cliniques lors d'infestation aigüe chez les petits ruminants se traduisent par une pâleur des muqueuses liée à une anémie, une hyperpnée et la tachycardie ainsi qu'un oedème

de l'auge qui est dû à une hypoprotéinémie. L'anémie est due aux larves L4 et aux adultes qui ponctionnent la muqueuse de la caillette en y provoquant la rupture de petits vaisseaux sanguins. Lors du repas de sang, des substances anticoagulantes sont produites par les vers, ce qui entraîne des pertes de sang importantes. Une perte de poids est fréquemment associée.

Les animaux peuvent être affectés par l'haemonchose à n'importe quel âge, mais les animaux jeunes ou plus âgés souffrant de carences alimentaires ou de mauvaises conditions d'élevage sont les plus sensibles. Chez les agneaux, les signes cliniques peuvent être très marqués avec des diarrhées profuses, de l'anémie et une mortalité élevée (Hue, 2014).

Les infestations chroniques sont caractérisées par un retard de croissance, avec une perte de poids, une mauvaise condition physique, un oedème sous-maxillaire, une léthargie et une faiblesse. Cet oedème est appelé signe de la bouteille et c'est un signe fréquemment observé lors d'haemonchose. La nature chronique de la perte de sang entraîne un épuisement des réserves de fer et le développement d'une anémie microcytaire. La diarrhée n'est pas associée à l'infestation à *H. contortus* ; en fait, les moutons atteints peuvent être légèrement constipés (Abbott et al. 2009).

Teladorsagia circumcincta

Les symptômes sont caractérisés par de l'inappétence, de la diarrhée, de la déshydratation, de la perte de poids et enfin la mort lors de forte infestation mais peuvent se traduire par une perte de poids ou des retards de croissance en l'absence de signes cliniques si l'infestation est faible.

En raison de la consommation réduite d'aliments et de la déshydratation, les moutons semblent «creux», avec très peu de remplissage du rumen. Les déficits de gains de poids sont la conséquence d'une diminution de l'appétit, d'une réduction de la consommation d'aliments et de la perte de protéines plasmatiques dans le tractus gastro-intestinal. La maladie résulte de dommages causés à la muqueuse abomasale par les larves lorsqu'elles sortent des glandes gastriques où elles se développent et par la présence de vers adultes sur la surface des muqueuses (Abbott et al. 2009).

Trichostrongylus colubriformis

Les infestations massives de l'intestin grêle par *Trichostrongylus colubriformis* provoquent de l'inappétence, de la diarrhée, de la perte de poids rapide et la mort. À des niveaux d'infestations plus faibles, les taux de croissance médiocres, parfois accompagnés de fèces molles, sont les

signes les plus courants. Les infections chroniques à *T. colubriformis* s'accompagnent d'une réduction de l'efficacité de conversion des aliments (Abbott et al. 2009).

2.2.3 Impact économique

Il est couramment admis que le parasitisme peut avoir des conséquences directes sur l'animal telle que la spoliation sanguine, des lésions du tube digestif via des actions traumatiques ou chimiques (Lefevre et al. 2003). Mais aussi des conséquences indirectes telles que la mobilisation de protéines pour une réponse immunitaire ou une restauration de l'intégrité des muqueuses digestives, une réduction de l'ingestion d'aliments due à l'anorexie, les pertes de nutriments via les diarrhées ou une sensibilité accrue à d'autres agents pathogènes. Tous ces facteurs ont des effets négatifs sur la production comme des retards de croissance, une diminution de la production de laine ou de lait, mais encore altèrent la qualité des carcasses ou de la viande en causant un taux de gras réduit, une rétention d'eau (Hafsi et al. 2012).

Dans une méta-analyse d'études comparant des animaux non infestés et des animaux infestés, Mavrot et al. (2015) indiquent que, chez les animaux infestés par le parasite, les pertes moyennes en gains de poids, en laine et en lait sont respectivement de 23, 10 et 22% des mêmes productions enregistrées chez des animaux non infestés.

Bien que la grande majorité des études aient rapporté un effet négatif du parasitisme sur la production, seules 58,3% des études ont montré que cet effet était statistiquement significatif. Ce manque de signification statistique pourrait être dû à la taille relativement petite de l'échantillon dans de nombreuses études, car la taille médiane de l'échantillon dans toutes les études incluses dans cette étude n'était que de 20. De plus, en présence d'infestations légères, l'impact sur les productions ou la santé des animaux pourrait être négligeable (Mavrot et al. 2015).

2.2.4 Lésions

Les vers adultes d' *Haemonchus contortus* sont visibles facilement à l'oeil nu à l'autopsie dans la caillette (Figure 2.4). Ils sont de couleur rouge et mesurent de 10 à 30 mm de long. La caillette présente des lésions hémorragiques, des petits ulcères, des nodules blanchâtres, et souvent, une hypertrophie de la muqueuse (Figure 2.5 (Mage, 1998)).



FIGURE 2.4 – *Haemonchus contortus* adultes dans la caillette

([http ://www.scaprin26.com/site_content/14-maladies/65-le-parasitisme-interne-caprins](http://www.scaprin26.com/site_content/14-maladies/65-le-parasitisme-interne-caprins))

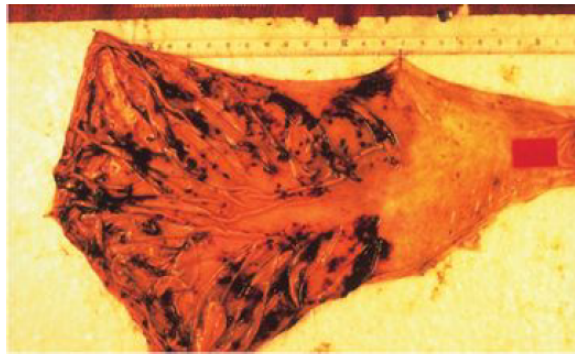


FIGURE 2.5 – Lésions de la caillette due à l'Haemonchose (Mage, 1998)

2.3 Diagnostic

2.3.1 Clinique

La présence de signes cliniques tels que l'anémie, l'amaigrissement, la perte de poids, la diarrhée peut orienter le diagnostic vers une strongylose digestive. Il existe des indicateurs cliniques permettant d'évaluer l'intensité de l'infestation par les strongles.

La technique FAMACHA

La technique FAMACHA est un outil pour détecter la présence d'anémie chez les ovins mais aussi un outil d'aide à la décision d'un traitement de l'haemonchose. Cette technique consiste à observer la couleur de la muqueuse oculaire et à la confronter à une grille de notation de couleurs associées à des stades de gravité de l'anémie (Figure 7). Elle permet notamment d'évaluer

l'intensité de l'infestation par *Haemonchus contortus*. La grille de notation comporte 5 notes. Les notes 1 et 2 correspondent à une couleur normale et une pâleur légère, ce qui ne nécessite pas de traitement contre les strongles. A partir de la note 3, un traitement anthelminthique est conseillé (Centre d'Expertise en Production Ovine du Québec , Page consultée le 20 août 2018). Cette technique a été développée en Afrique du Sud, suite à l'augmentation de la résistance aux anthelminthiques chez *H. contortus* . En effet, elle consiste à traiter uniquement les animaux incapables de résister à la maladie et à ne pas traiter les animaux dont les muqueuses oculaires ont une couleur rosée. De ce fait, on tolère une certaine proportion de d'individus parasités dans le troupeau, et qui constituent un “refuge” pour les parasites sensibles.

La technique FAMACHA est un moyen simple, efficace et peu coûteux de contrôler la présence de *Haemonchus contortus*. Elle ne nécessite aucun matériel spécifique et peut être réalisée par les éleveurs. Selon l'étude de Wan Wyk et al (2002), ce moyen a permis une réduction du coût des traitements de 58% dans les élevages testés. Néanmoins cette méthode présente une sensibilité faible. En effet, l'anémie est détectée plus facilement lorsque les muqueuses sont très pâles (note 4 ou 5), le diagnostic est ainsi assez tardif (Eichstadt, 2017).

Note d'état corporelle

La note d'état corporel permet d'évaluer l'épaisseur et la forme des muscles sous-lombaires ainsi que la couverture grasseuse des animaux. La surveillance de l'état corporel peut être effectuée en pratiquant une palpation lombaire, via une pression des doigts au niveau de la colonne vertébrale et sur les apophyses transverses des vertèbres lombaires, immédiatement derrière la dernière côte.

L'échelle de notation varie de 0 à 5 (Figure 2.7), 0 correspondant à une brebis cachectique, et 5 à une brebis obèse.

Cette technique permet de détecter un amaigrissement, mais elle n'est pas spécifique des strongyloses digestives, puisque diverses causes peuvent être à l'origine d'une perte de poids (Adjou, 2013).

Index de diarrhées

— Consistance des fèces (le score DISCO) :

Le score DISCO a été élaboré par Cabaret et al en 2006 et permet d'attribuer un score à la consistance des fèces. Le score 1 correspond à des fèces normaux, le score 2 correspond à des fèces molles, le score 3 correspond à de la diarrhée, c'est-à-dire des fèces semi-liquides.

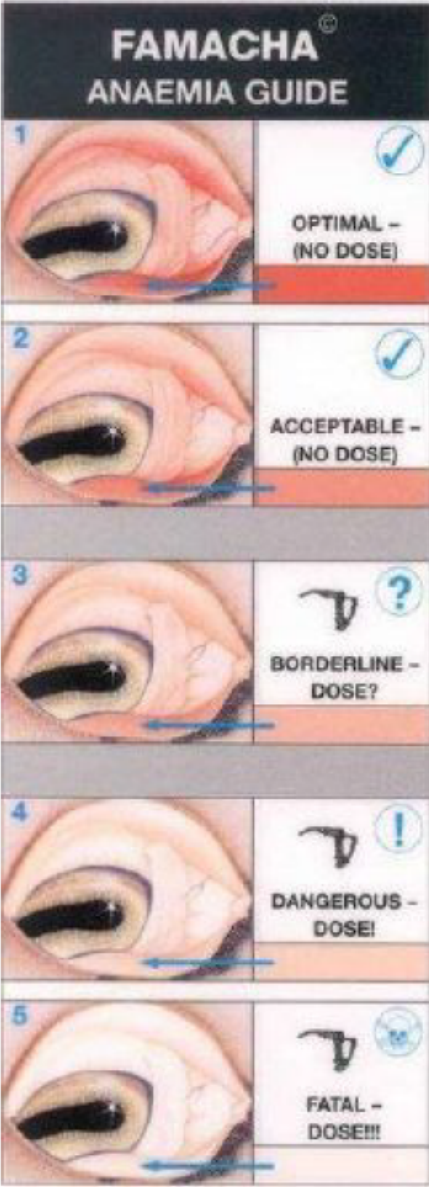


FIGURE 2.6 – Echelle FAMACHA (CEPOQ, Page consultée le 20 août 2018)

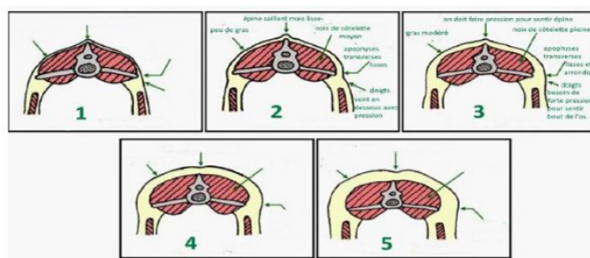


FIGURE 2.7 – Grille de notation de l'état corporel d'une brebis (CEPOQ, Page consultée le 20 aout 2018)

Il a été montré qu'après autopsie le nombre d'adultes est bien plus grand chez les brebis de score 3 que chez les brebis de score 1 (Cabaret et al. 2006).

— Souillures de l'arrière train (Dag-score) (Larsen 1995)

Le Dag-score est un marqueur de diarrhée présente ou passée qui se base sur les souillures de l'arrière train de l'animal (Figure 2.8)

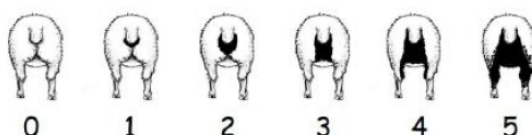


FIGURE 2.8 – Echelle de notation du dag-score (Bonnefont et Canellas, 2014).

Ces scores ne sont pas très spécifiques des strongyloses digestives, puisque la diarrhée peut être due à d'autres causes que des parasites. De plus, certains parasites comme *Haemonchus contortus* ne provoquent pas de diarrhée (Bonnefont et Canellas, 2014).

2.3.2 Diagnostic de laboratoire

Coproscopie quantitative

La méthode la plus utilisée dans le diagnostic des strongyloses digestives est le comptage des oeufs de strongles dans les fèces par la technique de McMaster modifiée par Raynaud (1970). C'est une méthode peu chère, rapide et qui ne nécessite que peu de matériel. Cette technique permet d'estimer indirectement l'intensité de l'infestation et ainsi de prendre une décision sur le traitement ou les mesures de contrôle à mettre en place (Roeber, Jex et Gasser, 2013). Elle ne permet néanmoins pas d'identifier les espèces de strongles. Méthode : 3 g de fèces sont pesés puis mélangés à 42 mL d'une solution sursaturée en NaCl ($d=1.18$). Après homogénéisation du mélange, celui-ci est filtré 3 fois à l'aide d'une passoire à thé. Les deux chambres d'une lame

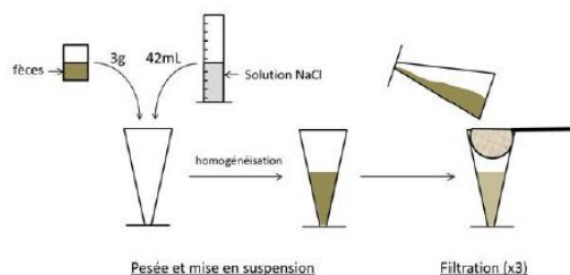


FIGURE 2.9 – Méthode de coproscopie (d’après Bonnefont et Canellas, 2014).

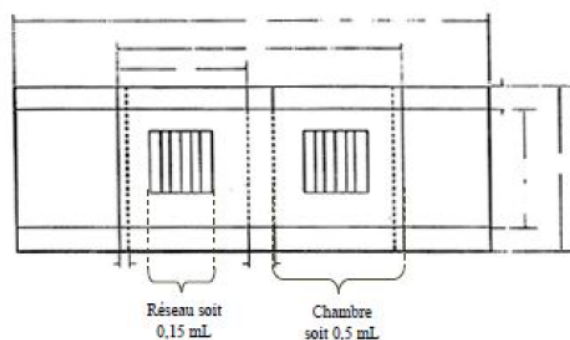


FIGURE 2.10 – Schéma d’une lame de McMaster (Bonnefont et Canellas, 2014).

de McMaster sont ensuite remplies avec le filtrat obtenu (Figure 2.9) (Bonnefont et Canellas, 2014).

Chaque chambre d’une lame de McMaster a une contenance de 0.5 mL et chaque réseau peut contenir 0.15mL (Figure 2.10). Les oeufs sont observés au microscope au grossissement x100. Le comptage est réalisé soit dans les 2 réseaux si l’excrétion est intense, soit dans les 2 chambres si l’excrétion est faible. Le nombre d’oeufs par gramme (OPG) est ensuite obtenu par les formules ci-dessous (Bonnefont et Canellas, 2014) :

- $OPG = (\text{nombre d'oeufs dans les 2 réseaux}) \times 50$
- $OPG = (\text{nombre d'oeufs dans les 2 chambres}) \times 15$

A l’échelle du troupeau, des coproscopies individuelles reviendraient beaucoup trop cher à l’éleveur, il faut donc prélever un échantillon représentatif de 10 à 15 animaux et faire une coproscopie de mélange. Celle-ci consiste à prélever 1 g de fèces de chaque animal puis à réaliser un mélange homogène pour faire un comptage d’oeufs sur ce mélange (Figure 2.11). D’après Morgan et al (2005), un mélange de fèces d’un groupe de mouton (soit 10 moutons, 3 g de fèces pour chaque mouton) donne une bonne estimation de l’intensité d’excrétion moyenne du groupe. Les seuils des résultats coprologiques sont résumés dans le tableau 2. Chez les petits ruminants,

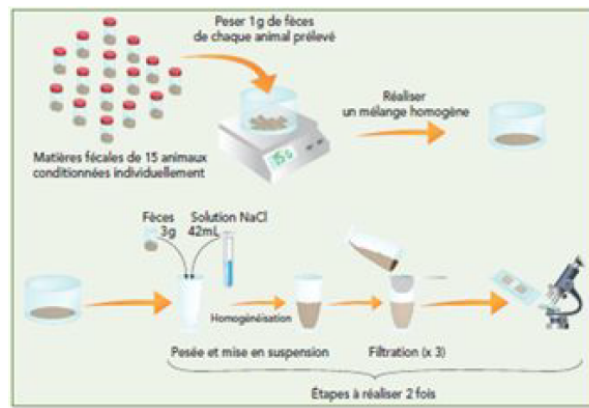


FIGURE 2.11 – Méthode de la coproscopie de mélange (Eichstadt, 2017).

Intensité d'excrétion d'œufs dans les fèces (opg)	Niveau de parasitisme par les strongles gastro-intestinaux
< 500	Faible
500 - 1000	Modéré
1000 - 2000	Elevé
> 2000	Très élevé

FIGURE 2.12 – Valeurs seuils d'un résultat coprologique chez les petits ruminants (Cours de parasitologie de l'ENVT)

si les intensités moyennes d'excrétion sont inférieures à 500 oeufs par gramme, alors l'intensité du parasitisme est considérée comme faible. A partir de 1000 oeufs par gramme, on considère le niveau de parasitisme comme élevé.

Culture larvaire

Elle se fait via l'incubation des prélèvements de matière fécale contenant les oeufs de strongles. Cette incubation permet l'éclosion des larves de premier stade à partir des oeufs puis le développement des larves L1 jusqu'en larves L3. Ces dernières sont ensuite examinées au microscope et identifiées morphologiquement. Il existe plusieurs protocoles impliquant différentes températures et différents temps de cultures notamment le protocole proposant une incubation à 27°C pendant 7 jours (MAFF, 1986). Le protocole le plus utilisé est de 23°C \pm 1°C sur 12 jours, pour permettre le bon développement de *Teladorsagia circumcincta*.

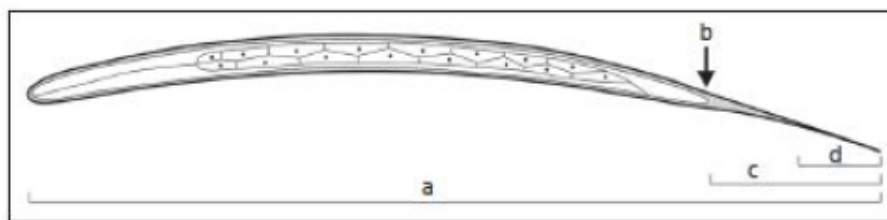


FIGURE 2.13 – Schéma d'une larve de nématode (a = longueur totale, b = extrémité caudale, c = extension caudale de la gaine, d = filament) (Van Wyk et Mayhew, 2013).

Toutes les espèces de strongles n'ont pas les mêmes conditions optimales de développement de leurs stades libres, il a ainsi été démontré qu'un protocole de culture peut favoriser la croissance d'une espèce au détriment des autres (Dobson et al 1992). Whitlock (1956) a observé que les conditions à 27°C pendant 7 jours sont adaptées à la plupart des espèces, mais que *Teladorsagia* se développait mieux à des températures plus basses. La culture larvaire permet ainsi d'obtenir un stade (la larve infestante) à partir de laquelle on peut identifier les espèces présentes, l'évaluation de leurs proportions étant à prendre avec précaution toutefois compte tenu des différences d'exigences écologiques pour le développement de leurs stades libres (Berrie et al, 1988), (Roeber, Jex et Gasser. 2013). Après la période d'incubation, l'extraction des larves est réalisée en remplissant les pots de culture avec de l'eau, en plaçant une boîte de Pétri sur le dessus et en retournant l'ensemble. La boîte de Pétri est remplie d'eau, les larves L3 vont ainsi migrer dans la boîte de Pétri. L'eau de la boîte de Pétri contenant les larves est prélevée à l'aide d'une pipette puis recueillie dans des tubes flacon de 45 mL conservés au réfrigérateur avant l'identification des larves (Van Wyk et Mayhew, 2013).

La différenciation morphologique des larves L3 est basée sur plusieurs paramètres, comme la longueur totale de la larve, la longueur de l'extension caudale de la gaine, la forme de l'oesophage, les extrémités caudales et crâiales (Figure 13) (Van Wyk et Mayhew, 2013).

Les larves L3 de *Trichostrongylus* et de *Teladorsagia* sont difficilement différenciables, et sont souvent regroupées pour l'identification. Néanmoins, après la perte de la gaine de la L2, les L3 de *Trichostrongylus* peuvent être différenciées de celles de *Teladorsagia* par la présence d'appendices digités au niveau de la queue (Figure 2.14). L'identification de ces deux espèces reste difficile et nécessite beaucoup d'expérience.

Si la perte de la gaine des larves de *Trichostrongylus* permet leur identification, ce n'est pas le cas des autres larves qui sont difficiles à reconnaître après le dégainage. Cela pose donc un problème pour l'identification des larves, puisque certaines se reconnaissent mieux avec leur gaine alors que

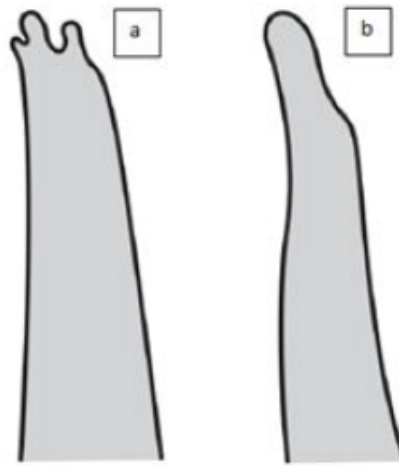


FIGURE 2.14 – Extrémité caudale de *Trichostrongylus colubriformis* (a) et de *Teladorsagia circumcincta* (b)

d'autres sont plus reconnaissables sans. Il est possible de réaliser l'identification morphologique en 2 étapes. Durant la première étape, les gaines sont présentes, *Trichostrongylus* et *Teladorsagia* sont regroupés alors que les autres espèces sont identifiées. La deuxième étape permet ensuite de différencier *Trichostrongylus* et *Teladorsagia* qui sont alors dégainés. Cependant, il est très long de réaliser l'observation avec gaine, puis de traiter les L3 à l'eau de javel pour ensuite faire une observation sans gaine. La longueur de l'extension caudale de la gaine est un critère important pour l'identification. L'extension caudale des larves infestantes de l'espèce *Haemonchus contortus* ($74\mu\text{m}$) est environ 2.5 fois plus grande que celle de *Trichostrongylus* ($30\mu\text{m}$) et de *Teladorsagia circumcincta* ($35\mu\text{m}$) (Van Wyk et Mayhew, 2013).

Tests immunologiques

Il existe plusieurs méthodes immunologiques, certaines indirectes et basées sur la détection de la réponse immunitaire d'un animal infecté, et d'autres directes basées sur la détection des antigènes des parasites. Ces tests sont très rarement utilisés en routine.

Méthodes directes : elles mettent en évidence la présence de parasites en détectant des antigènes dans la circulation ou dans les excréments de l'animal infesté. La composition de la cuticule ou des produits d'excrétion-sécrétion des nématodes est assez complexe et certaines molécules sont parfois partagées entre plusieurs espèces, ce qui entraîne des réactions croisées dans certains tests immunologiques (Roeber, Jex et Gasser. 2013). De plus la composition antigénique des stades larvaires varie de celle des adultes. Ceci entraîne beaucoup de variations de la sensibilité et de la spécificité dans le diagnostic.

Méthodes indirectes : elles mettent en évidence les anticorps dirigés contre le parasite chez l'animal hôte. Il existe plusieurs méthodes appliquées au diagnostic des infections par les nématodes, comme le test de fixation du complément, immunofluorescence, l'hémagglutination et le test ELISA. Néanmoins, les helminthes possèdent une variété considérable d'antigènes, et les informations sont assez limitées quant à quels stades ou quels antigènes sont impliqués dans la réponse immunitaire. Le principal inconvénient de la détection des anticorps dans le sérum est qu'on ne peut distinguer une infection présente ou passée.

Dosage du pepsinogène ou de la gastrine sérique

La gastrine est une hormone produite par les cellules G de l'estomac. Elle stimule la sécrétion d'acide chlorhydrique par les cellules pariétales, et ainsi la sécrétion du pepsinogène, la motricité de l'estomac et la circulation dans les vaisseaux sanguins de l'estomac. D'après, Berghen et al (1993), les nématodes stimulent les cellules G, ce qui augmente la production de gastrine. Mais cette théorie est remise en cause car il existe plusieurs autres facteurs pouvant intervenir dans une augmentation de production de gastrine, comme la présence d'autres parasites ou des lésions abomasales indépendantes des vers comme des ulcères (Roeber, Jex et Gasser. 2013).

Le pepsinogène est une pro-enzyme produite par les cellules principales du fundus. Il est transformé en enzyme active, la pepsine, par l'acide chlorhydrique. Lorsque les glandes de la muqueuse gastrique sont détruites par les parasites, la production d'acide chlorhydrique diminue, ce qui entraîne une augmentation du pH abomasal et ainsi une diminution de la conversion du pepsinogène en pepsine. Le pepsinogène qui s'accumule s'échappe alors dans les vaisseaux sanguins par les microlésions de la paroi. Une augmentation du pepsinogène sanguin résulte ainsi des lésions pariétales causées par les parasites. Le dosage du pepsinogène ou de la gastrine sérique peut donc être utilisé dans le diagnostic des strongyloses mais il n'est pas très spécifique car d'autres causes, parasitaires ou non, peuvent être à l'origine d'une augmentation de ces protéines dans le sang (Roeber, Jex et Gasser. 2013).

Méthodes basées sur l'ADN

Les technologies basées sur l'ADN ont permis le développement de méthodes diagnostiques plus sensibles et plus spécifiques que les méthodes conventionnelles vues précédemment. En particulier, les méthodes utilisant l'amplification enzymatique d'ADN, comme la PCR (Polymerase Chain Reaction) sont très utilisées et permettent de passer outre les limites posées par les méthodes

conventionnelles.

La PCR consiste à dénaturer le double brin d'ADN en augmentant la température. En diminuant la température, des amorces d'oligo-nucléotides vont se fixer sur une séquence complémentaire d'ADN sur les 2 brins. La température est ensuite augmentée à nouveau pour permettre l'activité enzymatique de l'ADN polymérase, qui va permettre de répliquer la séquence d'ADN ciblée. Ces étapes de synthèse sont répétées 20 à 40 fois, ce qui permet l'augmentation exponentielle du nombre de copies de la séquence d'ADN. Cette technique permet d'identifier spécifiquement chaque parasite, de détecter les infestations et d'analyser les variations génétiques entre isolats (Roeber, Jex et Gasser. 2013).

Actuellement, il est possible d'identifier les trois espèces majeures de strongles digestifs des petits ruminants (*Haemonchus contortus* , *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*) spécifiquement après coprocultures ou même directement dans les selles avec la technique de PCR en temps réel, appelée qPCR (Milhes et al, 2017). De plus, la méthode étant quantitative, il est possible de définir quelle est l'espèce majoritaire dans une suspension de larves obtenue après coproculture et quelles sont les espèces minoritaires.

2.4 Traitement avec des anthelminthiques

2.4.1 Molécules courantes

Les antiparasitaires sont classés en deux catégories : ceux qui tuent les vers, appelés vermicides, et ceux qui les paralysent, appelés vermifuges.

6 familles anthelminthiques sont disponibles sur le marché dont 5 sont utilisées en France : Les Benzimidazoles, les Imidazothiazoles, les Salicylanilides, les Lactones macrocycliques et les dérivés amino-acétonitriles (Jacquet et al. 2014) :

- Benzimidazoles (Köhler, 2001) : Introduits pour la première fois sur le marché en 1961, c'est aujourd'hui une famille d'anthelminthiques fréquemment utilisée en élevage ovin. Le mécanisme d'action des benzimidazoles réside dans sa capacité à se lier avec une affinité élevée à la tubuline, perturbant ainsi la structure et les fonctions des microtubules (Lacey, 1988). Les microtubules interviennent dans des fonctions cellulaires importantes telles que la mitose et les déplacements des organites au sein de la cellule. Par conséquent, une altération de ces microtubules entraîne un arrêt de la mitose et donc une mort du vers adulte en affectant les cellules intestinales des nématodes. En outre, les benzimidazoles ont une activité ovicide car les oeufs sont constitués de cellules embryonnaires qui, ne

pouvant plus se diviser, meurent.

Il semblerait que leur faible toxicité chez l'hôte soit principalement due à l'interaction beaucoup plus forte et irréversible de ces médicaments avec les tubulines des helminthes par rapport aux tubulines de mammifères (Lacey, 1988).

- Les Imidazothiazoles : Ils agissent sur le système nerveux des parasites en tant qu'agonistes de l'acétylcholine estérase. Dans cette famille on y retrouve le lévamisole et les tétrahydropyrimidines comme le morantel qui partagent le même mode d'action. La surface des cellules musculaires somatiques des nématodes possède des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (RnACh). Si un imidazothiazole se lie au site de reconnaissance du récepteur excitateur, il se produit une dépolarisation et une paralysie spastique du muscle du nématode pouvant entraîner à terme une expulsion du parasite. Ces produits ne sont donc pas des vermicides mais des vermifuges. De plus ils n'ont pas d'action sur les oeufs ou les larves. La toxicité sélective de ces composés semble être basée sur les propriétés uniques du RnACh des nématodes, qui apparaissent pharmacologiquement distinctes de celles des récepteurs homologues chez les animaux supérieurs. Pourtant, les index thérapeutiques du lévamisole sont faibles, ce qui signifie que les récepteurs nicotiniques des vertébrés peuvent tout de même être impactés.
- Les Lactones macrocycliques : cette classe comprend les avermectines (ivermectine, éprinomectine et doramectine) et les mylbémécines (comme la moxidectine). Ils produisent une paralysie flasque de la musculature somatique du ver et empêchent l'alimentation du parasite en bloquant le pompage pharyngien (Geary et al. 1993). Le site d'action de ces médicaments est un récepteur au glutamate des canaux chlorure spécifiques aux invertébrés (Dent, Davis et Avery. 1997). L'activité vermicide de ces composés vient donc de l'incapacité du vers à se nourrir par paralysie des muscles de son pharynx.
Cependant, il a été observé que l'ivermectine à des doses élevées interagit non seulement avec les canaux chlorure spécifiques au glutamate mais aussi sur des canaux chlorure GABA, indiquant que ce médicament, et ceux apparentés, peuvent être toxiques pour les vertébrés présentant des déficiences de leur barrière hémato-encéphalique (Etter et al., 1999). Plus précisément, cette toxicité est due à un manque ou à un déficit fonctionnel d'une pompe d'efflux membranaire de type P-glycoprotéine (protéine Mdr1a) (Kwei et al., 1999).
- Salicylanilides : Parmi cette famille, on retrouve le Closantel et une molécule apparentée, le Nitroxinil. Ces deux molécules perturbent la génération d'ATP en découplant la phosphorylation oxydative mitochondriale (Köhler, 2001). Par exemple, le Closantel

perturbe le gradient de proton entre les compartiments mitochondriaux, les mitochondries étant la source de la production d'ATP et donc d'énergie. Sous l'action du closantel, le parasite se retrouve privé d'énergie, il puise dans ses réserves et fini par mourir et être éliminé. Cette famille fait donc parti des vermicides. Ces composés se lient de manière spécifique et irréversible aux protéines plasmatiques, principalement à l'albumine ce qui leur confère une certaine rémanence.

Ces molécules ont un spectre d'action étroit car elles ne sont efficaces que sur les parasites hématophages (*H. contortus*, *Fasciola hepatica*) et sur les stades larvaires L1 à L3 d'*Oestrus ovis* qui consomment des protéines sanguines à la suite de leur extravasation dans les muqueuses nasales et sinusales des ovins ou caprins infestés. Ceci vient du fait qu'elles ont une distribution tissulaire très faible mais sont principalement présentes dans le sang (Veillet, 2001).

Par conséquent, afin de couvrir les SGI non-hématophages, le closantel est souvent associé à d'autres composés tels que l'oxfendazole ou l'ivermectine (Jacquiet et al. 2014).

- Dérivés amino-acétonitriles : La première nouvelle famille de molécules efficace contre les parasites multi-résistants a été les dérivés amino-acétonitrile (AAD) avec le Monépantel. La molécule agit en provoquant une hyper-contraction des muscles du corps du parasite conduisant à des contractions spasmodiques de la portion antérieure du pharynx, puis la paralysie et enfin la mort de celui-ci (Kaminsky et al. 2008). Cette famille entre donc dans la catégorie des vermicides. Le mécanisme d'action est semblable à celui du Lévamisolé sauf que la molécule se lie à la sous-unité DEG-3 du récepteur nicotinique à l'acétylcholine, un récepteur spécifique des nématodes. Ainsi, le monépantel a une toxicité quasi-nulle chez les mammifères puisqu'ils ne possèdent pas cette sous-unité. Même si le monépantel ne semble pas rémanent, son utilisation reste intéressante en cas de SGI multi-résistants, notamment aux lactones macrocycliques (Kaminsky et al. 2011). Cependant, il est interdit aux brebis laitières à tous les stades de leur vie.

2.4.2 Nouvelles molécules

Une autre famille récente de molécules est celle des Spiroindoles, dans laquelle figure le derquantel. Seule l'association avec l'abamectine, faisant partie des lactones macrocycliques, est commercialisée (Little et al. 2010). Cependant cette spécialité n'est pas disponible en France actuellement mais seulement au Royaume-Uni et en Nouvelle-Zélande depuis 2010. Son spectre d'action reste mal connu mais il ne semble pas efficace contre les stades L4 de *H. contortus*.

résistants aux lactones macrocycliques mais conserve une certaine efficacité contre des L4 de *T. colubriformis* avec un degré de résistance mineure (Kaminsky et al. 2011).

Le derquantel est un antagoniste cholinergique, sa liaison au récepteur nicotinique inhibe la fixation de l'acétylcholine et conduit à la paralysie flasque du nématode (Geurden et al. 2012).

Les principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro-intestinaux et disponibles chez les ovins sont présentés dans le tableau en annexe 12 avec leur spectre d'action, leur posologie et leurs restrictions d'usage (Jacquiet et al. 2014).

2.5 Solutions alternatives et complémentaires aux molécules chimiques

Les solutions alternatives ou complémentaires aux anthelminthiques se déclinent selon 3 objectifs principaux (Hoste et Chartier. 2002) :

- 1) fournir les bases épidémiologiques pour une utilisation plus parcimonieuse et plus pertinente des traitements (« Traiter moins mais traiter mieux »)
- 2) renforcer la capacité des animaux à supporter le parasitisme et ses conséquences pathologiques en agissant sur des leviers nutritionnels ou génétiques
- 3) enfin, réduire à la source l'importance des contaminations des animaux par les larves 3 infestantes en appliquant une gestion raisonnée du pâturage qui prend en compte le risque parasitaire.

Différentes stratégies ont été mises au point afin d'endiguer le problème de l'émergence de résistances aux anthelminthiques. Nous n'en citerons que quelques-unes car ce n'est pas le sujet principal ici mais pour plus de détails, le lecteur pourra se référer à la thèse de Julie TABEL (2011).

2.5.1 Méthodes basées sur l'amélioration de l'immunité de l'hôte

Une stratégie de contrôle des strongyloses gastro-intestinales consiste à améliorer les apports en protéines de la ration afin d'augmenter la réponse immunitaire de l'hôte (résistance) et ses performances de production pendant l'infestation (résilience). En effet lorsque l'animal est infesté, non seulement ses besoins en protéines et énergie vont augmenter via la stimulation du système immunitaire, mais ses apports vont se voir diminués et ses pertes nutritionnelles augmentées du fait de la spoliation sanguine et/ou des nutriments par les parasites.

Améliorer l'immunité de l'hôte peut aussi s'effectuer en passant par la sélection génétique. En effet certaines races ou individus semblent plus résistants ou résilients à l'infestation par les SGI. Par exemples les races tropicales semblent plus résistantes que les races tempérées (Lahlou-Kassi, Tembly et Baker. 1994). Une étude a été réalisée pour comparer les réponses immunitaires à *Haemonchus contortus* entre deux races : la race Barbados Blackbelly (BBB) qui est une race provenant des caraïbes et d'Amérique du Sud et qui est résistante aux parasites, et la race INRA 401 (appelée Romane aujourd'hui) qui est plus sensible. Il a été montré que les BBB ont une réponse immunitaire plus forte à *Haemonchus contortus* que les INRA 401 lors d'une première infestation. Cependant, lors d'une ré-infestation, les INRA 401 résistent mieux que lors de la première infestation, ce qui n'est pas observé chez les BBB (Terefe et al. 2007).

Une autre étude réalisée dans le pays Basque sur des Manech Tête Rousse a démontré que la sélection de béliers résistants à des infestations artificielles de SGI permettait d'améliorer la résistance de leur progéniture à des infestations naturelles. Il serait intéressant d'intégrer ce paramètre aux critères de sélection des béliers Manech Tête Rousse, mais il faudrait d'abord estimer les corrélations génétiques entre la résistance aux SGI et les autres critères comme la production laitière ou les résistances aux mammites (Aguerre et al. 2018).

Nous connaissons tous un moyen efficace pour se protéger des pathogènes tels que les virus ou les bactéries : la vaccination. Mais est-ce efficace contre les parasites intestinaux ? Il semblerait que cette protection ne sera jamais de 100% et qu'elle nécessite de nombreux rappels pour maintenir un niveau d'anticorps protecteur suffisant. Il existe aujourd'hui un vaccin, BarberVax ND, qui cible l'espèce *Haemonchus contortus*. Ce vaccin est commercialisé depuis 2014 uniquement en Océanie. Il a été montré que ce vaccin offre une protection de 75 à 95%, mais il nécessite 4 à 5 injections à 6 semaines d'intervalle. De plus la vaccination ne remplace pas totalement les traitements anthelminthiques ni les programmes de régulation de la population de SGI en élevage car il ne cible qu'une seule espèce et il est conseillé de surveiller l'intensité d'excrétion d'oeufs des animaux vaccinés pour s'assurer d'une bonne immunisation (Bésier et al. 2015).

2.5.2 Méthodes basées sur la gestion de la pâture

Trois axes ont été identifiés, parmi ceux-ci la stratégie d'évasion qui consiste à changer les animaux de parcelle juste avant le pic d'infestation et ne les y remettre qu'une fois la contamination redescendue à des niveaux acceptables. Cela demande une connaissance fine de l'épidémiologie

locale, ce qui n'est pas toujours possible.

Une autre stratégie est celle de la dilution qui consiste à introduire dans la pâture des hôtes peu ou pas sensibles. Par exemple mélanger des ovins et des bovins permet aux ovins de voir une réduction de l'infestation par les trichostrongles. Mais ce n'est valable que pour les SGI qui ont un spectre d'hôte très étroit (*Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* en particulier). Enfin la stratégie de prévention où des mesures d'assainissement sont mises en oeuvre avant le pâturage. Ceci comprend les traitements préventifs réguliers à la mise à l'herbe, ou une alternance entre pâturage et cultures ou encore l'alternance entre des espèces différentes. Pour cette dernière, il a été montré que les bénéfices observés les premières années ne persistent pas dans le temps (Bairden, Armour et Duncan. 1995). Compte tenu des résistances, il serait mieux aujourd'hui d'abandonner la procédure utilisant les traitements préventifs réguliers à la mise à l'herbe de même que le « treat and move », stratégie qui consiste à déplacer les animaux à peine traités sur une parcelle neuve.

2.5.3 Méthodes basées sur un usage raisonné des anthelminthiques

Une première approche consiste à améliorer les stratégies de traitements chimiques actuels en gérant mieux les traitements anthelminthiques actuels. En effet souvent les traitements sont systématiques et non précédés d'une coprologie afin d'évaluer le degré d'infestation et de traiter de façon ciblée.

Comme cité plus haut dans le III de la partie 2, cette méthode permet de constituer des "refuges" pour les parasites sensibles et revient à tolérer un certain seuil d'infestation aux SGI. Ce refuge est défini comme la proportion de la population de vers non sélectionnée par traitement médicamenteux (Knox et al. 2012). On ne traite que les animaux (traitement sélectif) ou les lots d'animaux (traitement ciblé) qui ont dépassé ce seuil et après un examen coprologique.

2.5.4 Méthodes basées sur d'autres molécules ou principes actifs que les traitements conventionnels

Sous forme d'aiguilles d'oxyde de cuivre, l'apport en cuivre semblerait avoir un effet antiparasitaire en réduisant le taux d'excrétion parasitaire et en diminuant la charge de *H. contortus* dans la caillette (Knox. 2002 ; Soli et al. 2010). Mais ce qui compte pour l'éleveur, ce sont surtout l'amélioration des paramètres zootechniques tels que le gain de poids, et dans l'étude de Soli et al (2010), aucun gain de poids n'a été observé. Cependant, les ovins étant très sensibles à la toxicité chronique du cuivre, ce traitement peut paraître risqué compte tenu du peu d'effets

significatifs obtenus dans de nombreuses études.

L'utilisation de plantes à effets anthelminthiques a été proposée. Les plus connues sont probablement les plantes contenant des tanins condensés qui sont naturellement contenus dans certaines légumineuses. L'efficacité sur les vers dépend de la nature et de la concentration des tanins, elle semble plus forte sur les espèces présentes dans la caillette que pour les espèces situées dans l'intestin (Hoste et al., 2016). Les tanins peuvent avoir des effets sur le niveau d'infestation mais peu sur les performances de production des ovins (Tabel. 2011).

Chapitre 3

LA RÉSISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES

La résistance est un phénomène génétique, héritable, qui confère à une souche de parasites la capacité de survivre à des concentrations d'antiparasitaires habituellement létales pour les individus sensibles de l'espèce (définition de l'OMS). L'efficacité de la molécule utilisée peut alors être considérablement réduite, voire nulle, ce qui pose un problème important en élevage (Hafsi, China et Ghalmi. 2012).

Si dans un premier temps le développement des anthelminthiques de synthèse a été novateur et salubre pour les productions animales, leur utilisation massive et souvent trop peu raisonnée a entraîné de nombreuses résistances au sein des populations de parasites qui aujourd'hui menacent les filières ovine et caprine dans de nombreux pays du monde comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande ou le Royaume Uni (Taylor. 2013).

Les résistances d'*Haemonchus contortus* aux différentes familles d'anthelminthiques sont apparues dans la plupart des cas, moins de 10 ans après leurs mises sur le marché. Par exemple, la première résistance d'*Haemonchus contortus* au fenbendazole a été détectée en 1975 en Afrique du Sud, soit 4 ans après le début de l'utilisation de la molécule (Kotze et Prichard. 2016).

A partir des années 90, le contrôle des parasites est devenu d'autant plus difficile dans les pays de l'hémisphère sud que des résistances multiples aux anthelminthiques se sont développées. La résistance est multiple lorsqu'elle est dirigée contre plusieurs voire toutes les familles d'anthelminthiques connues. Ces résistances multiples sont à l'origine d'importantes pertes économiques dans les régions du monde où l'élevage ovin est intensif (Hafsi, China et Ghalmi. 2012).

Des travaux dans différents pays dans le monde comme l’Australie ou l’Amérique du Sud dans les années 90 et 2000 montrent que le phénomène de résistance concerne toutes les espèces de strongles et les 3 grandes familles d’anthelminthiques (Hafsi, China et Ghalmi. 2012).

Aujourd’hui, même les nouvelles classes d’anthelminthiques comme les dérivés amino-acétonitrile, sont concernées par des résistances. En effet le premier cas de résistance au monépantel par *Haemonchus contortus* a été rapporté dans des fermes ovines en Uruguay en 2014 (Mederos, Ramos et Banchero. 2014).

3.1 Facteurs favorisants

Même si les conditions d’apparition de résistance aux anthelminthiques sont le résultat de mutations génétiques aléatoires, certaines pratiques peuvent augmenter la fréquence des allèles de résistance générés par mutations aléatoires.

3.1.1 La fréquence d’utilisation d’un anthelminthique

Certains schémas thérapeutiques dits “suppressifs” consistent à traiter les ovins toutes les trois semaines dans le but d’empêcher la reproduction des parasites et ainsi d’assainir les pâtures. Seuls les individus résistants pourront continuer le cycle et ainsi transmettre à leur descendance leur avantage évolutif.

Plus la fréquence d’utilisation d’une molécule est élevée, plus la pression de sélection est forte et plus les résistances se développeront rapidement. Dans une méta-analyse, il a été montré que la fréquence du traitement était statistiquement associée de manière significative à la résistance aux anthelminthiques (Falzon et al. 2014).

Waller et al. 1989 ont montré une réversion de la résistance au Benzimidazole et au Levamisole après un arrêt d’utilisation pendant 5 années. Cependant, ce cas ne peut être généralisé et il est fréquemment observé qu’une fois acquise la résistance aux Benzimidazoles perdure (Cazajoux et al., 2018).

3.1.2 Le pâturage mixte

Comme vu précédemment dans la partie 2.5.2, c’est une méthode alternative visant à réduire l’utilisation des anthelminthiques en mélangeant des espèces différentes sur une même pâture. Dans une méta-analyse (Falzon et al. 2014), les probabilités de résistance aux anthelminthiques

semblent être plus élevées dans les exploitations pratiquant le pâturage mixte, bien que cette estimation ne soit pas statistiquement significative, peut-être en raison du nombre limité d'études.

3.1.3 La taille des troupeaux

Il est communément admis qu'une forte densité d'animaux augmente la probabilité d'apparition de maladies au sein du troupeau. Par conséquent, on pourrait penser que de grands troupeaux favorisent les parasitoses, dont celles des SGI, et par conséquent entraînent un traitement plus important. Cependant il s'avère que l'association entre la taille du troupeau et les taux de résistance aux anthelminthiques ne soit pas statistiquement significative (Falzon et al. 2014).

3.1.4 Le sous-dosage

Le sous-dosage pourrait être impliqué dans la progression des résistances aux anthelminthiques. Il peut être du fait d'une mauvaise conservation des médicaments et donc moins de molécules actives, d'une erreur d'estimation du poids de l'animal ou alors d'une erreur lors de l'administration. Ce facteur fait encore débat au sein de la communauté scientifique quant à son rôle dans la dissémination de résistance aux anthelminthiques (Eichstadt. 2017).

3.1.5 La rémanence des molécules

L'impact des molécules rémanentes dans l'apparition de résistance aux anthelminthiques fait encore débat. En effet, l'utilisation de formulations longues actions semble avoir une corrélation peu significative avec la résistance aux anthelminthiques dans la méta-analyse de Falzon (2014) tandis qu'une autre étude semble montrer qu'elles favoriseraient la sélection d'allèles de résistance dans les populations de SGI en maintenant une pression de sélection de plusieurs semaines (Jacquiet. 2015).

3.1.6 Le traitement systématique et non-sélectif ou "Drench-and-Shift"

Le drench-and-shift consiste à traiter les animaux avant la mise à l'herbe, de manière systématique et non-sélective, ce qui constitue un facteur de risque important. Les résultats de deux études analysées dans Falzon (2014) ont rapporté des associations positives entre le drench-and-shift et la résistance aux anthelminthiques, mais ceci de manière non significative compte tenu du faible nombre d'études.

3.1.7 L'introduction d'individus résistants dans l'élevage

L'importation d'animaux dans un élevage comporte toujours des risques de transmissions de pathogènes pour lesquels les individus autochtones n'ont pas forcément le système immunitaire compétent pour lutter contre, c'est pourquoi il est recommandé d'effectuer une période de mise à l'écart des animaux importés appelée quarantaine. En absence de quarantaine, certains strongles importés porteurs d'allèles de résistance transmettront leur résistance aux strongles autochtones (Torres-Acosta et Hoste. 2008).

3.1.8 L'utilisation des médicaments à large spectre

Comme leur nom l'indique, les produits à large spectre ciblent différents parasites, dont ceux qui n'étaient pas forcément à la base des problèmes de santé rencontrés par l'animal. Par conséquent, si l'on traite avec ce genre de molécules pour d'autres espèces parasitaires que les SGI mais que la molécule les affecte quand même, il y a une augmentation de la fréquence de développement de résistances (Torres-Acosta et Hoste. 2008).

3.2 Mécanismes de résistance

Il existe deux types de mécanismes de résistance mis en place par les strongles gastro-intestinaux : les mécanismes non spécifiques et les mécanismes spécifiques.

Les mécanismes non spécifiques comprennent : la surexpression des gènes de certaines P-glycoprotéines, qui sont des pompes d'efflux des antiparasitaires, la détoxification, notamment par le cytochrome P450 et des modifications structurales des neurones sensoriels entraînant une réduction de leur exposition aux antiparasitaires.

Les mécanismes spécifiques sont issus de mutations sur les cibles des anthelminthiques.

3.2.1 Résistance aux Benzimidazoles

Il s'agit d'un mécanisme spécifique. La cible des benzimidazoles est la β -tubuline. En se liant à elle, un arrêt de la polymérisation est provoqué. La résistance est associée à une perte d'affinité entre la molécule anthelminthique et son récepteur. Cette perte d'affinité est due à une mutation ponctuelle sur le gène de la β -tubuline, aboutissant au changement de l'acide aminé en position 200, une phénylalanine étant remplacée par une tyrosine. Des mutations en position 167 et 198 ont également été montrées comme étant à l'origine de résistance aux benzimidazoles (Kotze et Prichard. 2016).

Cette mutation est responsable de résistance aux benzimidazoles chez *C. elegans*, *H. contortus* mais aussi *T. circumcincta* (Kohler. 2001). Pour que les vers soient résistants, ils doivent être homozygotes, c'est-à-dire posséder les deux allèles de résistance. Les vers hétérozygotes restent sensibles (Jacquiet et al. 2014).

3.2.2 Résistance aux Imidazothiazoles

Il s'agit d'un mécanisme spécifique. La cible des imidazothiazoles est le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR). Lors de résistance, l'affinité entre la molécule et la cible est plus faible. L'étude de Sangster et al (1998), indique que cette résistance est polygénique, c'est à dire qu'elle implique plusieurs gènes. Des études sur plusieurs nématodes et notamment *Haemonchus contortus* ont permis de comprendre les mécanismes impliqués dans cette altération de l'affinité. Il a ainsi été montré que des changements moléculaires de la cible sont à l'origine la résistance. Ces modifications sont consécutives à la présence de formes tronquées de gènes codant pour des sous unités du nAChR, à une transcription réduite de ces mêmes gènes ou bien à une transcription réduite de gènes codant pour des protéines auxiliaires. Néanmoins, ces modifications ne sont pas toujours associées aux résistances observées, ce qui suggère de multiples mécanismes impliqués (Kotze et Prichard. 2016).

3.2.3 Résistance aux Lactones macrocycliques

Les mécanismes de résistance aux lactones macrocycliques sont mal connus, les études étant controversées. En effet, même si des mutations ponctuelles dans le gène d'une sous-unité du récepteur au glutamate des canaux chlores ont été identifiées chez des souches de laboratoire résistantes à l'ivermectine, aucune étude n'a pu mettre en évidence que des mutations dans les gènes de la cible étaient à l'origine de la résistance à l'ivermectine dans des populations sauvages (Jacquiet et al. 2014).

Certaines études ont montré le rôle de la glycoprotéine P. Cette pompe à efflux, présente dans le tégument et les cellules épithéliales du ver, permettrait de moduler l'efficacité des lactones macrocycliques en diminuant l'exposition des cibles de l'anthelminthique. Des polymorphismes des gènes codant pour la glycoprotéine P ont été détectés chez *Haemonchus contortus* et pourraient être associés à une résistance aux lactones macrocycliques. De plus, plusieurs études ont montré une surexpression de la glycoprotéine P chez des populations résistantes (Kotze et Prichard. 2016).

Un autre mécanisme pouvant être impliqué dans la résistance aux lactones macrocycliques chez

Haemonchus contortus a été étudié en 2014 par Urdaneta-Marquez et al. Il s'agit d'une mutation dans un gène (*dyf-7*) qui conditionne le développement des neurones sensoriels des amphides (organes chimiorécepteurs des nématodes situés à l'extrémité antérieure du ver) (Jacquet et al. 2014). Pour les vers porteurs d'une mutation sur ce gène, le développement des amphides est moindre ce qui réduirait l'exposition des neurones sensoriels à l'ivermectine.

Les mécanismes de résistance ne sont pas identiques entre les molécules au sein des lactones macrocycliques. En effet, il a été montré dans l'étude de Coles et al (1994) que si la moxidectine était efficace contre *Haemonchus contortus*, ça n'était pas le cas de l'ivermectine (Kohler. 2001). En 2012, Prichard et al ont démontré que s'il y avait un certain degré de résistance croisée entre les avermectines et la moxidectine, mais les résistances aux deux sous familles de molécules ne sont pas rigoureusement identiques (Prichard, Ménez et Lespine. 2012).

3.2.4 Résistance au Salicylanides

Le spectre de ces molécules étant très étroit, les mécanismes de résistance ont été très peu étudiés par rapport aux autres familles d'anthelminthiques. Rothwell et Sangster (1997) ont examiné l'absorption et le métabolisme du closantel chez des souches résistantes et sensibles d'*Haemonchus contortus*. Il a été observé qu'aucun ver n'avait la capacité à métaboliser le produit que ce soit *in vitro* ou *in vivo*. Cependant, il a été observé que le Closantel s'accumulait moins chez les vers résistants que chez les sensibles. Le mécanisme responsable reste inconnu, mais les auteurs supposent que cela serait dû à une diminution de l'ingestion par les vers résistants ou par un efflux augmenté du produit. Plusieurs études ont tenté de détecter la présence d'un polymorphisme de la glycoprotéine P pour expliquer la réduction de l'accumulation du closantel chez les vers résistants mais n'ont pas abouti (Kotze et Prichard. 2016).

3.2.5 Résistance aux Dérivés amino-acétonitriles

L'existence d'une résistance au monépantel a été mise en évidence très récemment et les mécanismes impliqués n'ont pas encore été décrits *in vivo*. Kaminsky et al (2008) a étudié cette nouvelle molécule et a observé des larves d'*Haemonchus contortus* sur plusieurs générations après exposition à des concentrations suboptimales de dérivés d'amino-acétonitrile. Il a été montré qu'il existe des lignées mutantes de *Haemonchus contortus* qui sont résistantes à des doses thérapeutiques de dérivés amino-acétonitriles. Ces lignées présentent des mutations dans les gènes des sous-unités du récepteur nicotinique à l'acétylcholine (Kotze et Prichard. 2016).

3.3 Méthodes de détection de résistances

Après une suspicion de résistance sur le terrain, il faut pouvoir la confirmer par des tests de laboratoire. Ceux-ci peuvent s'effectuer directement sur l'hôte (tests *in vivo*) tandis que d'autres sont effectués à partir de prélèvements contenant les dits parasites seulement (tests *in vitro*).

3.3.1 Méthodes *in vivo*

Le Egg Hatch Test (EHT) et le test de développement larvaire (LDT)

Étant un test simple à réaliser et permettant d'identifier les résistances de toutes les familles d'anthelminthiques pour les SGI, il est le plus utilisé. Le principe est basé sur une estimation indirecte de l'efficacité d'un anthelminthique en comparant l'intensité d'excrétion fécale des oeufs avant et après traitement ou entre un groupe traité et un non traité.

- Réalisation

Toutes les recommandations suivantes proviennent du consensus établi par la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) et doivent être respectées afin que le test soit représentatif et interprétable.

- Taille des lots : au moins 10 animaux chacun, l'idéal étant 15
- Âge des animaux : 3 à 6 mois
- Ne pas traiter pendant 3 mois avant le début des manipulations
- Ne garder que les animaux dont l'intensité d'excrétion est supérieure à 150 OPG (oeufs par gramme de matières fécales)
- Prélever 3 à 5g de matières fécale dans le rectum pour chaque individu, les conditionner et les identifier individuellement
- Analyser les prélèvements aussi vite que possible par la méthode McMaster. Si jamais l'analyse ne peut se faire immédiatement, conserver les prélèvements à 4°C pendant, et maximum 24h si des coprologies doivent être effectuées par la suite
- Traiter les animaux avec l'anthelminthique à tester par voie orale, à la dose recommandée par le fabricant et selon le poids de l'animal le plus lourd du lot.
- Les prélèvements post-traitement sont effectués après un délai qui est fonction de l'anthelminthique concerné : 8 à 10 jours pour les benzimidazoles, 3 à 7 jours pour le lévamisole, 14 à 17 jours pour les lactones macrocycliques. L'intérêt de ces délais est

de limiter les faux négatifs dus à l'inhibition de ponte directement après le traitement. Si plusieurs produits sont testés en même temps dans une exploitation, on admet un délai unique de 14 jours pour les prélèvements post-traitement.

- Calcul du FECR Plusieurs méthodes sont possibles, nous avons choisi celle-ci :

$$FECR = (1 - (OPG_{traitésj14} \div OPG_{ctrlj14})) \times 100 \quad (3.1)$$

avec $OPG_{traitésj14}$ correspondant aux résultats de coprologie d'un groupe ayant reçu un anthelminthique 14 jours post-traitement et $OPG_{ctrlj14}$ correspondant aux résultats de coprologie du groupe contrôle à 14 jours après traitement. Inclure les résultats de coprologie du groupe témoins permet de tenir compte de l'évolution naturelle de l'excrétion des oeufs des animaux entre les deux dates, à condition cependant que les FEC initiaux des groupes contrôle et traités soient homogènes.

- Interprétation et limites du FECRT Selon les recommandations de la WAAVP, une résistance est mise en évidence si le FECR est inférieur à 95%, et si la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% est inférieure à 90%. Si un seul de ces deux critères est vérifié, alors la résistance est suspectée (Coles et al. 1992).

Le détail du calcul de l'IC à 95% est fourni dans l'annexe 1.

La principale limite de cette méthode est le manque de sensibilité car la détection de résistance est tardive du fait qu'il faut plus de 25% de parasites résistants dans une population pour qu'on détecte une résistance avec ce test (Papadopoulos. 2008). De plus, ce test dépend de la prolificité des espèces. En effet, si une espèce est résistante mais très peu prolifique comme *Trichostrongylus colubriformis*, la réduction d'excrétion d'oeufs pourra être supérieure à 95% et dans ce cas, la résistance de *T. colubriformis* à cette molécule ne sera pas détectée.

C'est pour ces raisons que les résultats du FECRT doivent souvent être confirmés par un bilan parasitaire suite à une infestation expérimentale, notamment pour confirmer les premières résistances aux lactones macrocycliques en Europe.

Les infestations expérimentales (Controlled Anthelmintic Efficacy Test)

C'est le test de référence pour l'évaluation des résistances aux anthelminthiques, notamment suite à une suspicion émise avec le FECRT.

Des coprocultures sont effectuées à partir des prélèvements de matières fécales réalisés dans l'élevage, puis les L3 infestantes obtenues sont inoculées à des agneaux naïfs non-infestés. Trente

jours après l'inoculation, lorsque l'infestation est patente, des lots contrôles et traités sont constitués. Dix jours après les traitements, les animaux sont abattus et un comptage des vers est effectué. La résistance est confirmée si la réduction du nombre d'adultes par rapport au lot témoin est inférieure à 90%, ou si plus de 1000 vers ont survécu au traitement (Taylor, Hunt et Goodyear. 2002).

On peut comprendre pourquoi cette méthode n'est pas effectuée en élevage vu qu'elle nécessite le sacrifice des animaux en plus d'être longue et coûteuse (Papadopoulos. 2008).

3.3.2 Méthodes *in vitro*

Le Egg Hatch Test (EHT) et le test de développement larvaire (LDT)

- *Egg Hatch Test*

C'est un test de laboratoire pour la détection des résistances aux benzimidazoles. Le principe est d'évaluer la capacité du composé à inhiber l'éclosion des oeufs de SGI (Coles et al. 2006). Plusieurs concentrations d'un benzimidazole sont ajoutées à des solutions contenant des oeufs fraîchement prélevés (moins de 3 heures) afin de déterminer la DL, soit la concentration à partir de laquelle 50% des oeufs ne se développent pas.

L'avantage de ce test est qu'il ne nécessite qu'un seul prélèvement de matière fécale par animal. Cependant, sa corrélation au FECRT est faible. De plus, ce test semble peu reproductible, et les résultats dépendent grandement du laboratoire effectuant l'analyse. De plus, comme le FECRT, ce test détecte les résistances lorsqu'au moins 25% des allèles d'une population sont des allèles de résistance (Papadopoulos. 2008).

- *Le test de développement larvaire*

Il permet d'évaluer la capacité des L1 à évoluer en L3 en présence d'un anthelminthique choisi. De même que l'EHT, il permet de détecter des résistances aux benzimidazoles et au lévamisole mais aussi aux lactones macrocycliques. Il s'effectue de la même manière que l'EHT sauf que les oeufs ne nécessitent pas d'être frais.

Même si ce test est un peu plus long que l'EHT, il a l'avantage d'être plus sensible car détecte les résistances larvaires lorsque 10% de la population est porteuse d'allèles résistants, et on peut aussi avoir recours à des identifications de larves L3 résistantes par la suite (Papadopoulos. 2008).

La limite de cette méthode est qu'elle est difficile à standardiser du fait de la grande variabilité d'expérience entre les laboratoires et entre les techniciens d'un même laboratoire.

Méthodes moléculaires de détection d'allèles de résistance

Bien que les anciennes méthodes aient permis de mettre en évidence des résistances au sein des populations de SGI, avec les nouveaux outils moléculaires disponibles actuellement, il est possible de détecter des parasites résistants aux benzimidazoles lorsque 1% de la population possède un allèle de résistance (Papadopoulos. 2008).

Cependant, ces tests moléculaires de détection des résistances aux benzimidazoles ne sont pas toujours corrélés aux tests biologiques, tels que le FECRT, l'EHT ou le LDT, puisqu'il existe des mécanismes non-spécifiques qui confèrent des résistances aux benzimidazoles et résultant d'autres mutations que celles identifiées jusqu'à présent (Kotze et Prichard. 2016).

Actuellement, il existe des tests opérationnels pour les Benzimidazoles mais pas encore pour les lactones macrocycliques ou le lévamisole. Cependant, compte tenu du coût et du manque de standardisation, elles ne sont pas utilisées couramment.

Chapitre 4

EVALUATION DE LA RÉSISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX CHEZ LES OVINS EN RÉGION PACA

4.1 Matériels et méthodes

4.1.1 Protocole

Le protocole utilisé dans cette étude est celui proposé par Coles et al 1992. Des élevages sont sélectionnés dans lesquels des prélèvements individuels de matière fécale sont réalisés à J0 et J14 post-traitement sur une dizaine de brebis par lot. Un traitement anthelminthique est réalisé à J0. Le FECR est ensuite calculé à partir des résultats d'analyses coprologiques individuelles.

4.1.2 Choix des élevages

L'étude a été organisée par le GDS04, par le Docteur Vétérinaire Fanny Bastien. Les élevages ont été sélectionnés sur la base du volontariat et en raison de suspicions de résistance aux anthelminthiques émises par l'exploitant ou son vétérinaire traitant. Les critères d'inclusion dans l'étude sont les suivants : les animaux de l'étude doivent appartenir au même lot, c'est à dire avoir la même histoire de pâturage, et aucun traitement antiparasitaire n'a dû être effectué

dans les 2 mois précédant les premiers prélèvements. En effet, un traitement récent pourrait pré-sélectionner des vers et donc la totalité des populations de strongles gastro-intestinaux ne serait pas représentée. Un seuil minimal d'excrétion a été choisi : 150 opg, qui a été proposé dans les guidelines de la WAAVP. En effet en dessous de ce seuil, l'évaluation de la résistance ne serait pas fiable. 6 élevages d'ovins allaitants ont ainsi été choisis dont 5 ont été retenus pour l'étude, le 6ème a été retiré en raison d'intensités d'excrétion insuffisantes.

Le tableau 3 présente les caractéristiques des élevages de l'étude. On peut observer que les races sont très différentes entre les élevages, ce qui pourrait constituer un biais dans nos expériences car il peut y avoir des races plus sensibles au parasitisme que d'autres. Néanmoins, les différences de résistance entre races de métropole ne sont pas très importantes, ce biais ne serait donc pas très significatif. Aucune étude n'a clairement montré une différence de résistance intrinsèque entre différentes races de moutons de métropole mais des lignées dans des races ont été sélectionnées afin de pouvoir résister aux nématodes (Hernandez et al. 2017) (Greer et al. 2018).

Tous les élevages de l'enquête pratiquent la transhumance, l'altitude à laquelle vont paître les brebis est en moyenne autour des 2000 mètres d'altitude sauf pour l'élevage 5 dont l'altitude moyenne est de 1500 mètres environ.

Comme on peut le constater sur la figure 15, les sites de transhumance sont très éloignés du site d'élevage des brebis. En effet les sites d'élevage sont concentrés autour de Digne les Bains, à l'exception de l'élevage 1 qui est un peu plus au Nord, alors que les lieux de transhumance sont répartis dans toute la partie nord- nord-est du département des Alpes de Haute-Provence. La zone de transhumance de l'élevage 3 est même proche de la frontière italienne. Les élevages 1 et 5 ont des lieux de transhumance proches, au Nord de Digne les Bains, de même les élevages 3 et 4 sont tous deux proches de la frontière italienne au Nord-Est. Seul l'élevage 2 présente deux sites de transhumance distincte où les brebis sont réparties entre ces deux zones de pâtures.

4.1.3 Choix des animaux

Dans chaque élevage, les animaux choisis proviennent du même lot d'élevage, n'ont pas été traités avec un antiparasitaire dans les 2 mois qui précèdent les prélèvements et ont déjà été au pâturage. Ces animaux ont donc déjà été exposés aux parasites.

Elevage et localisation	Effectif total	Race	Transhumance	Lots étudiés	Traitements au cours de l'année	Altitude en mètres lors de la transhumance (moyenne)
1 : Thoard	300	Mérinos	Du 15/06 au 12/09	Brebis	Nétobimin en janvier-février 2017 (selon les résultats des copro.)	1600-2000 (1800)
2 : Le Chaffaut-Saint-Jurson (a)	650	Préalpes du Sud	Du 30/06 au 15/09	Agnelles de moins d'un an	Traitements selon les résultats copro. au printemps et automne	1500-2600 (2050)
3 : Le Chaffaut-Saint-Jurson (b)	380	Mouret-Rousses, Lacaunes	Du 20/06 au 05/10 (mouret rousSES)	Agnelles, antenaises et brebis (2 à 11 ans)	Albendazole en janvier 2017	1900-2600 (2250)
4 : Digne-les-bains	330	Croisées Ile de France	Du 25/06 au 25/09	Brebis (2 à 8 ans)	Ivermectine (12/01) selon copro Closantel (15/06) systématique 1* par an	1800-2100 (1950)
5 : La Robine-sur-Galabre	370	Croisées (*)	Du 20/06 à début novembre	Antennaises et brebis de 2 à 9 ans	Mébendazole, closantel (automne 2016), Moxidectine(janvier2017), Nétobimin (printemps2017), traitement systématique	1200-1900 (1550)

TABLE 4.1 – Caractéristiques des élevages de l'étude,

(*) à base de Mérinos, Ile de France, Romane, Thones et Marthod, Charolais, Bérichon du Cher

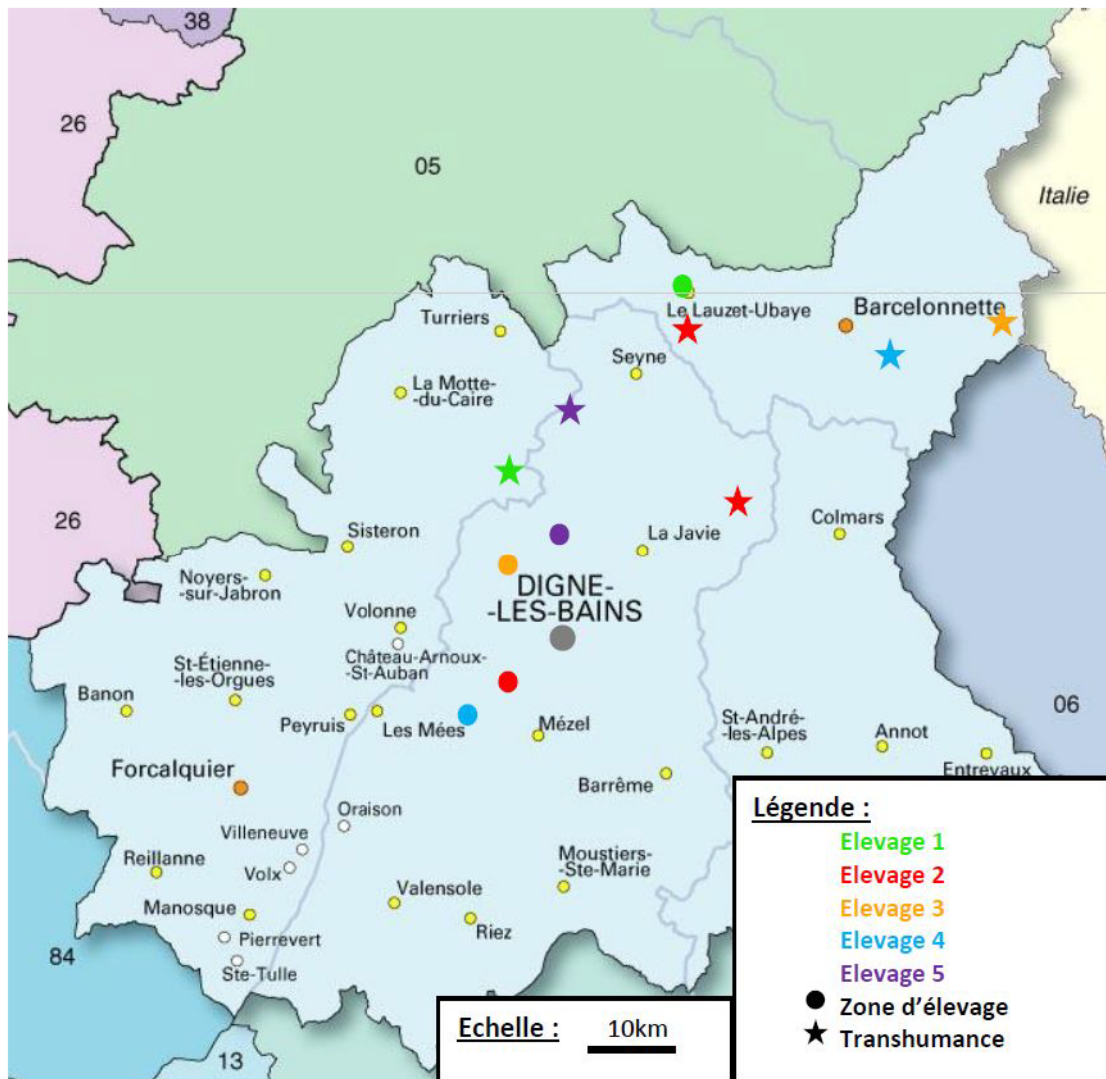


FIGURE 4.1 – Carte des élevages et des zones de transhumance

Dans chacun des élevages, 40 individus ont été sélectionnés et répartis aléatoirement dans 4 lots de 10 animaux : un lot témoin, un lot traité avec du fenbendazole, un lot traité avec de l'ivermectine et un lot traité avec de la moxidectine.

4.1.4 Prélèvements des selles et traitement des brebis

A J0, des prélèvements individuels de matière fécale ont été réalisés sur les 40 animaux sélectionnés dans chaque élevage. Ces prélèvements ont été réalisés à la main directement dans le rectum des animaux et conditionnés dans des pots à prélèvements individuels identifiés avec les numéros de l'élevage et de l'animal, puis conditionnées à une température de 4°C. Entre 5 et 10g de matières fécales ont été prélevés pour chaque animal.

Les animaux ont ensuite été traités selon les lots. Le lot témoin (T) a été traité avec de l'eau courante de l'élevage, avec environ 15 mL d'eau par animal. Le lot Panacur (P) a été traité avec du fenbendazole (Panacur 2,5%® 5 mg/kg), le lot Oramec (O) a été traité avec de l'ivermectine (Oramec ®0,2 mg/kg voie orale) et le lot Cydectine (C) a été traité avec de la moxidectine (Cydectine ®0,1% 0,2 mg/kg voie orale). Les traitements ont été réalisés à l'aide d'une seringue B.Braun ®20 mL.

Les animaux ont été immobilisés par l'éleveur puis les doses ont été administrées derrière le torus lingual par le manipulateur. Les doses ont été calculées par rapport au poids de l'animal le plus lourd du lot.

A J14, une deuxième série de prélèvements individuels de matière fécale a été réalisée sur les mêmes animaux dans les différents élevages.

Au total, $2 \times 5 \times 40 = 400$ prélèvements à analyser en coprologie ont été obtenus, soit 200 coprologies pré-traitement et 200 post-traitement.

Après avoir réalisé les coprologies, les matières fécales des animaux de chaque lot (entre 3 et 5 grammes par individu) ont été mélangées dans des pots d'une contenance de 1 litre afin de réaliser une coproculture, on a donc obtenu un total de 40 pots à coproculture, soit 20 pots en pré-traitement et 20 pots en post-traitement.

4.1.5 Analyses coprologiques et calcul du FECR

Les 400 prélèvements réalisés ont été analysés par coprologie avec la méthode de McMaster modifiée par Raynaud (1970).

Elevage	Poids de l'animal le plus lourd	Quantité administrée/ animal
1	60kg	Panacur : 12 mL Oramec : 15 mL Moxidectine : 12mL
2	50kg	Panacur : 10 mL Oramec : 12.5 mL Moxidectine : 10mL
3	70kg	Panacur : 14 mL Oramec : 17.5 mL Moxidectine : 14mL
4	80kg	Panacur : 16 mL Oramec : 20 mL Moxidectine : 16mL
5	70kg	Panacur : 14 mL Oramec : 17.5 mL Moxidectine : 14mL

TABLE 4.2 – Doses administrées aux animaux dans chaque élevage

Les FECR ont ensuite été calculés avec les résultats obtenus selon la formule vue dans le III de la partie 3.

4.1.6 Coprocultures de mélange

Les coprocultures permettent le développement des larves du stade L1 au stade L3 d'oeufs de SGI présentes dans des matières fécales.

Cependant, comme vu précédemment dans la partie 2, les différentes espèces de SGI ont des conditions d'humidité et de température pour un développement optimal des larves qui diffèrent. Par conséquent, une température moyenne permettant le développement des larves de toutes les espèces a été choisie, les 40 pots à coproculture ont été incubés à $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 15 jours et humidifiés avec une pipette d'eau distillée tous les 2 jours. Les larves L3 ont ensuite été extraites à l'aide de la technique de MAFF 1986 et placées en suspension dans 45 mL d'eau qui a été centrifugée à 4500 rpm afin de concentrer les larves dans 5 mL d'eau. Les suspensions ont ensuite été stockées à 4°C jusqu'à l'identification par PCR. Les détails de cette technique sont disponibles dans la thèse de Eichstadt, 2017, p53.

4.1.7 Amplification de l'ADN des larves par PCR temps réel

L'utilisation de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) temps réel pour différencier les différentes espèces de strongles digestifs a été une grande avancée dans ce domaine car la méthode traditionnelle qui consistait à les identifier selon des critères morphologiques et morphométriques au stade L3 est une méthode réservée à du personnel très entraîné et très chronophage. De plus il a été démontré une bonne corrélation entre la méthode microscopique et l'identification moléculaire par PCR temps réel pour différencier les différentes espèces de SGI (Eichstadt, 2017).

Extraction de l'ADN des L3 et des adultes

L'extraction de l'ADN des L3 et des adultes a été effectuée en utilisant le kit PowerSoil®, selon le protocole mis en place par le fabricant, à partir d'un échantillon de 500 μL pour chaque suspension parasitaire. Après extraction, les échantillons d'ADN ont été conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation en PCR temps réel (Eichstadt, 2017).

Caractéristiques techniques de la PCR

Les réactions PCR sont réalisées en Simplex (un seul type d'amorces par puits) afin d'éviter les hybridations non-spécifiques et les compétitions entre les amorces et les sondes.

L'automate utilisé était le Mx3005P (Agilent Technology, La Jolla, CA, USA) avec les étapes suivantes : dénaturation initiale à 95°C pendant 2 min (activation de la Taq-polymérase), puis amplification lors de 45 cycles constitués chacun de 30 secondes à 95°C (dénaturation des brins d'ADN) et 1 min à 53°C (hybridation des amorces et sondes et élongation). Les résultats sont analysés grâce au logiciel MxPro QPCR v4.10 software (Agilent Technologies, La Jolla, CA, USA).

Chaque puits contient 2,5 μL d'ADN à amplifier, 10 μM (0,5 μL) d'amorce Reverse (3'), 10 μM (0,5 μL) d'amorce Forward (5'), 2 μM (1 μL) de sonde spécifique, 10 μL de réactif iQ Multiplex Power Mix (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA) et 5,5 μL d'eau BSA (Bovine Serum Albumin) pour un volume final de 20 μL .

La PCR a été réalisée selon le protocole décrit par Milhes et al (2017).

Détermination des courbes étalons de chaque espèce

3 échantillons de 2 000 L3 provenant des isolats de *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis* sont préparés. L'ADN de chaque échantillon est extrait puis dilué en série dans le même volume d'eau stérile (ratio 1 :1) de manière à obtenir par échantillon six concentrations d'ADN équivalentes à 500, 250, 125, 62, 30, et 7,5 larves.

Les réactions PCR sont réalisées 2 fois chacune afin d'avoir une marche de sécurité si jamais il y avait une erreur dans un des deux puits. Si les deux puits donnent des valeurs proches, alors la moyenne des deux est gardée et se nomme Cq moyen. Une régression linéaire permet de déterminer l'équation suivante :

$$Cq_{moyen} = p \times \log(\text{nombre de larves}) + a \quad (4.1)$$

Ceci nous donne par la suite par exemple pour *H. contortus* :

$$n(\text{larves}) = 10^{-\frac{Cq-35,319}{3,6998}} \quad (4.2)$$

où $n(\text{larves})$ est le nombre de larves de l'espèce considérée dans un échantillon, estimé par la valeur de Cq obtenue.

Dénombrement des échantillons des coprologies mélangées

Les caractéristiques des réactions PCR et la composition des puits sont identiques à celles décrites précédemment. Chaque réaction PCR est effectuée en présence d'un témoin négatif (eau BSA sans ADN) et de témoins positifs (ADN équivalent à 500, 125 et 7 L3 de l'espèce à amplifier). Le nombre total de larves par mL est calculé en sommant le nombre de larves de chaque espèce obtenu à partir des C_q des réactions PCR spécifiques. Les proportions relatives des espèces ont été établies pour chaque suspension larvaire.

4.2 Résultats

4.2.1 Réductions des intensités d'excrétion fécale après traitement (FECR)

Les intensités moyennes d'excrétion d'oeufs de SGI (FEC) obtenues par coprologie ainsi que les résultats des calculs de pourcentage de réduction d'excrétion fécale sont résumés dans le tableau 4.3 ci-dessous.

Pour les lots traités avec du Fenbendazole, les FECR varient de 44.4% à 98.8%. Une résistance au fenbendazole est identifiée dans les élevages 1, 2 et 4 (FECR < 95% et borne inférieure de l'IC 95% < 90%). Une résistance au fenbendazole est suspectée dans les élevages 3 et 5 (FECR > 95% et borne inférieure de l'IC 95% < 90%).

Aucune résistance n'est détectée pour l'ivermectine et la moxidectine, le pourcentage de réduction de l'intensité d'excrétion fécale étant de 100% dans tous les élevages et pour les deux molécules.

Les données brutes des coprologies sont présentées dans les tableaux des annexes 5 à 9. De plus, les annexes 10 et 10bis comportent les moyennes, écarts type, médiane, valeur haute et basse des résultats de FEC pour tous les élevages à j0 et j14 respectivement.

Lot	Résultat	Elevage 1		Elevage 2		Elevage 3		Elevage 4		Elevage 5	
		J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14
Contrôle	FEC moyen	354	207	459	343	695	577	292	184	364	204
	(opg)	n = 5		n = 9		n = 6		n = 6		n = 7	
	FECR (%)	-		-		-		-		-	
	IC 95% (%)	-		-		-		-		-	
Fenbendazole (Panacur®)	FEC moyen	309	18	443	191	273	12.5	236	23	444	2.5
	(opg)	n = 5		n = 7		n = 5		n = 7		n = 5	
	FECR (%)	91.3%		44.4%		97.8%		87.2%		98.8%	
	IC 95% (%)	[80.6 – 96.1]		[-12.0 – 72.4]		[89.1 – 99.6]		[60.2 – 95.9]		[85.1 – 99.9]	
Ivermectine (Oramec®)	FEC moyen	276	0	338	0	285	0	334	0	288	0
	(opg)	n = 5		n = 7		n = 4		n = 8		n = 9	
	FECR (%)	100		100		100		100		100	
	IC 95% (%)	-		-		-		-		-	
Ivermectine (Oramec®)	FEC moyen	333	0	407	0	322	0	201	0	339	0
	(opg)	n = 5		n = 9		n = 4		n = 5		n = 8	
	FECR (%)	100		100		100		100		100	
	IC 95% (%)	-		-		-		-		-	

TABLE 4.3 – FECR et intervalles de confiance à 95% des lots étudiés,

“n” correspond au nombre d’animaux ayant un FEC supérieur ou égal à 150 opg à J0 et ayant été pris en compte dans les calculs

4.2.2 Identification des espèces de strongles digestifs présentes avant et après traitement

Echantillons	Nb HC	Nb Tela	Nb Tricho	Nb total de larves identifiées	% HC	% Tela	% Nb Tricho
Elevage 1	12	8	12	32	38,1	24,6	37,3
Elevage 2	3	20	522	544	0,5	3,6	96,0
Elevage 3	42	96	119	257	16,3	37,4	46,3
Elevage 4	1	26	87	113	0,7	22,6	76,7
Elevage 5	136	577	234	947	14,3	61,0	24,7

TABLE 4.4 – Etat des lieux à J0 de la présence des différentes espèces de SGI dans les élevages de l'étude

(HC = *Haemonchus contortus*, Tela = *Teladorsagia circumcincta*, Tricho = *Trichostrongylus colubriformis*)

A J0, l'espèce la plus abondante est *Trichostrongylus colubriformis* dans les élevages 2, 3 et 4. Dans l'élevage 5, l'espèce la plus abondante est *Teladorsagia circumcincta*. Dans l'élevage 1, il y a globalement peu de larves et on retrouve les 3 espèces de strongles en proportions quasi-similaires. On note la présence de très peu de larves de *Haemonchus contortus* dans les élevages 2 et 4.

Sur la figure 4.2, on note une présence plus importante d' *Haemonchus contortus* dans les élevages situés au Nord de Digne-les-Bains qu'au Sud de cette ville. Parallèlement, on constate une proportion plus importante de *Trichostrongylus colubriformis* au Sud de Digne-les-bains. Les résultats de la PCR sont résumés dans les figures 4.3 à 4.7 ci-dessous. Le détail des proportions de chaque espèce et du nombre total de L3 pour chaque lot et chaque élevage est précisé dans le tableau placé en annexe 11.

Dans tous les élevages, une seule espèce présente une résistance nette au fenbendazole, il s'agit de *Trichostrongylus colubriformis*. Cependant, dans les élevages 1 et 2, on note, à J14 post-traitement avec le fenbendazole, la présence d'une faible proportion de larves *Haemonchus contortus* pour l'élevage 1 (8.7%, soit 6 larves) et de larves de *Teladorsagia circumcincta* pour l'élevage 2 (0.5% soit 2 larves). Ces valeurs étant très faibles, il est difficile de se prononcer en faveur d'une résistance de ces 2 espèces au fenbendazole. La moxidectine et l'ivermectine sont efficaces contre *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis* dans tous les

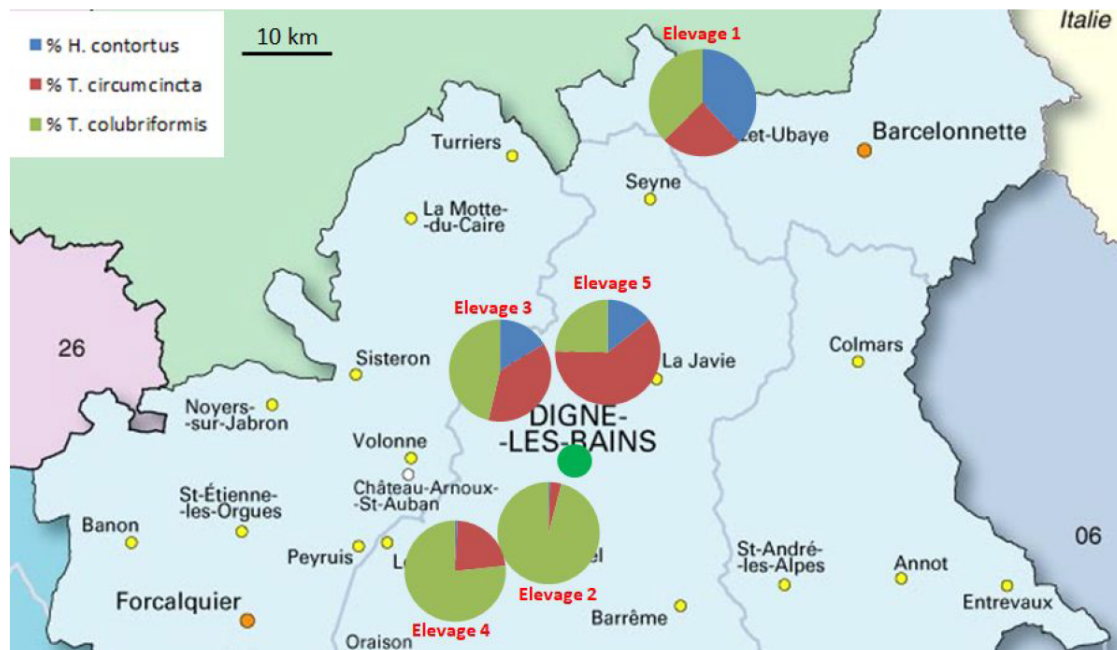


FIGURE 4.2 – Répartition des différentes espèces de strongles dans les élevages à J0

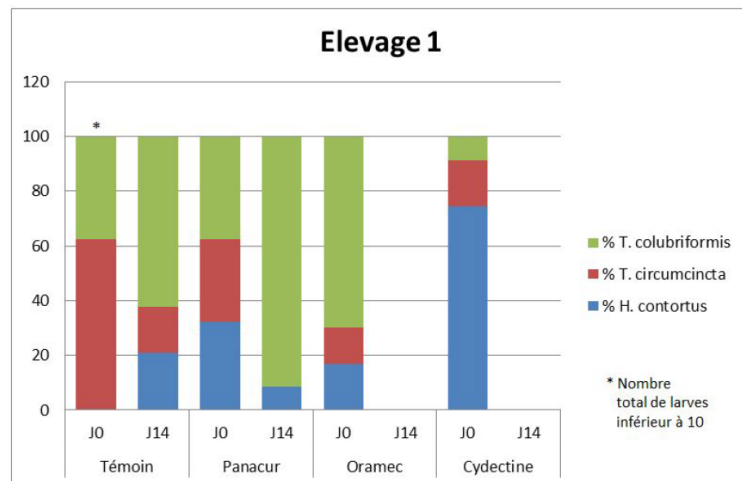


FIGURE 4.3 – Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 1

élevages et sont efficaces contre *Haemonchus contortus* dans les élevages 1 et 5. Néanmoins on ne peut pas conclure à l'efficacité de ces deux molécules contre *Haemonchus contortus* dans les élevages 2, 3 et 4 en raison de la rareté de cette espèce dans les coprocultures de ces élevages à J0.

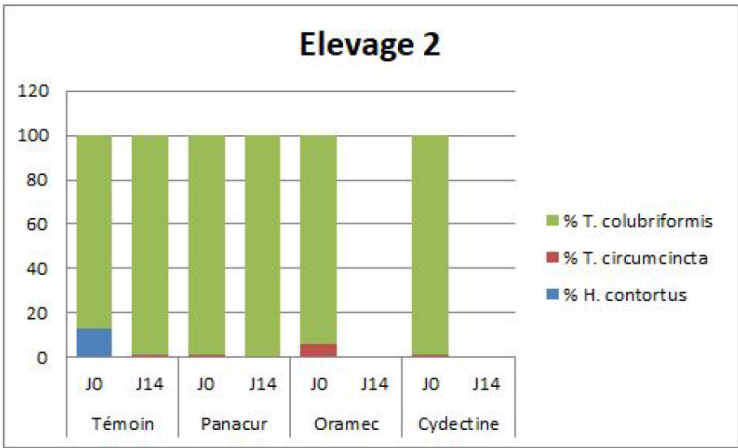


FIGURE 4.4 – Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 2

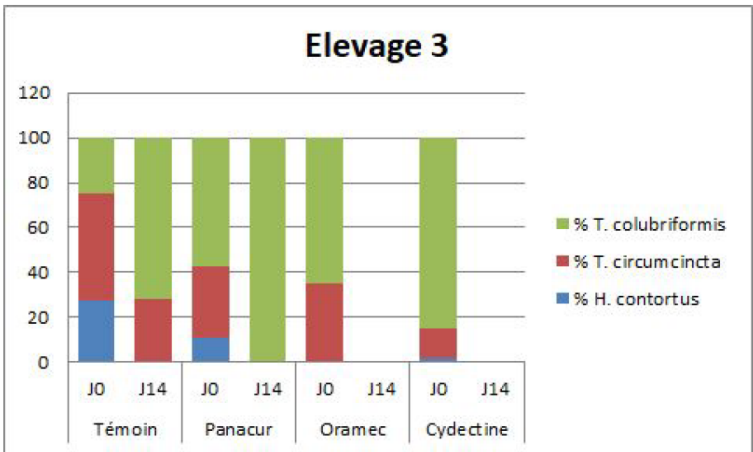


FIGURE 4.5 – Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 3

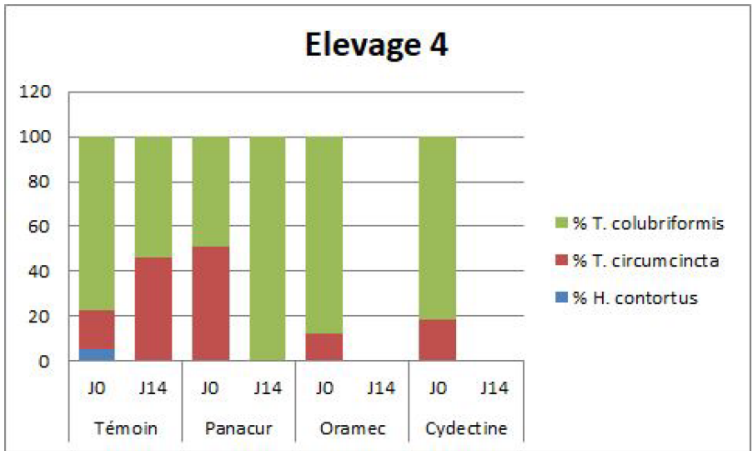


FIGURE 4.6 – Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 4

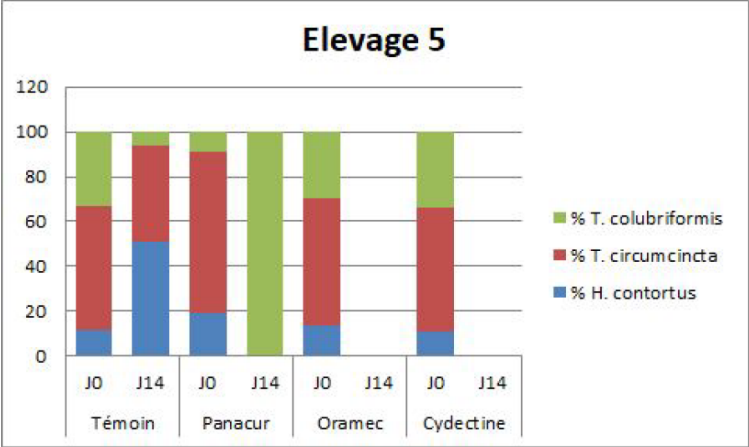


FIGURE 4.7 – Proportions en strongles à J0 et J14 de l'élevage 5

4.3 Discussion

4.3.1 Etat des lieux à J0 de la population parasitaire

On constate beaucoup de variations de proportions des différentes espèces de parasites d'un élevage à l'autre à J0. Il y a peu d'*H. contortus* dans les élevages 2 et 4 par rapport aux élevages 1, 3 et 5. Cependant, il ne semble pas y avoir de relations entre la localisation géographique de transhumance ou l'altitude avec le niveau d'infestation par les SGI. En effet on aurait pu s'attendre à ce que les élevages où le pâturage est plus haut en altitude présente moins d'*H. contortus* vu qu'il supporte moins les températures basses, ou alors une similarité de la population parasitaire entre les élevages dont la zone de transhumance est proche. Ceci peut venir du fait que la proportion en parasite trouvée un jour j varie selon beaucoup de paramètres dont par exemple la politique de traitement parasitaire. De plus compte tenu du faible nombre d'élevages, il semble difficile d'en tirer une conclusion. Une étude sur un plus grand nombre d'élevages serait intéressante pour apporter une réponse à cette question.

Par ailleurs, l'élevage 2 possède le plus grand troupeau (650 moutons), cela pourrait expliquer le grand nombre de larves détectées car un grand cheptel augmente la pression parasitaire. De plus, cet élevage se différencie des autres par sa très forte proportion de *T. colubriformis*, qui est quasiment la seule espèce présente à J0 dans tous les lots.

4.3.2 Efficacité des anthelminthiques dans les cinq élevages étudiés

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la présence de résistance aux anthelminthiques couramment utilisés dans les élevages ovins en région PACA, et en cas de résistance avérée, d'identifier l'espèce ou les espèces de parasites résistantes. Cependant, au vu du petit effectif d'élevages analysés, ces résultats sont à prendre avec précaution. En effet, cette étude n'est pas forcément représentative de toute la région PACA. Un soupçon de résistance aux lactones macrocycliques aurait pu donner des suites pour la confirmer mais la résistance aux benzimidazole étant courante, on ne fait plus d'infestation expérimentale pour l'infirmier ou la confirmer.

Mise en évidence de résistances aux benzimidazoles

Les résultats obtenus après calcul du pourcentage de réduction d'excrétion fécale montrent une résistance nette au fenbendazole dans l'élevage 2. En effet, le FECRT n'étant pas un test très sensible, on peut affirmer qu'avec une FECR de 44% et un indice de confiance en dessous de 90%, il y a présence de résistance au fenbendazole. Les résultats des élevages 1 et 4 sont en revanche à

prendre avec précaution. *Trichostrongylus colubriformis* est l'espèce la moins prolifique des trois, donc si un traitement est efficace contre *Haemonchus contortus* et *Teladorsagia circumcincta* mais pas contre *Trichostrongylus colubriformis*, les pourcentages de réduction d'oeufs risquent de rester proches de 90 à 95% et pourtant, il y a bien une population de *Trichostrongylus colubriformis* qui résiste. Un tel résultat peut également être obtenu avec des brebis en mauvais état général, ce qui n'est pas le cas dans cette étude, où seules des brebis en bon état ont été retenues.

Dans deux études similaires menées en Corrèze (Eichstadt, 2017) et en Bretagne (Tanguy, 2011), où une résistance aux benzimidazoles a été identifiée pour la première dans 3 élevages sur 4 et dans la seconde dans les 4 élevages testés, les valeurs de FECR obtenues sont beaucoup plus faibles (-6.3, 12.3, 83.3 dans la première étude, 48 à 79 pour la deuxième) que dans notre étude. La situation semble plus critique en Corrèze et en Bretagne qu'en région PACA puisque on a des FECR plus élevés que dans les deux autres régions. Cependant il faut prendre en compte l'helminthofaune de départ de chaque zone et les espèces qui résistent qui peuvent faire varier les valeurs des FECR. En effet quand *Trichostrongylus colubriformis* résiste et qu'il est mélangé aux autres espèces qui restent sensibles, les FECR seront forcément élevés.

De plus, dans une autre étude (Geurden, 2014), ce FECRT a été réalisé dans 10 fermes différentes en France (5 en Aveyron et 5 en Pyrénées Atlantiques) et les résultats sont tout aussi alarmants que ceux de Corrèze ou de Bretagne : l'efficacité du fenbendazole était comprise entre 0 à 68%. Dans la même étude, 8 fermes italiennes sur les 10 testées présentaient encore des pourcentages de réduction compris entre 98 et 100%, ce qui montre que certains pays échappent encore en grande partie à la résistance aux benzimidazoles.

Cette différence de résistance au fenbendazole entre les régions en France pourrait venir de la conduite des troupeaux. En effet, en région PACA l'usage de la transhumance permet de diminuer la pression parasitaire et donc possiblement le nombre de traitements effectués par an sur une brebis.

Mise en évidence de la résistance de *Trichostrongylus colubriformis* au fenbendazole

Les résultats de la PCR montrent qu'une espèce en particulier, *Trichostrongylus colubriformis*, présente une résistance au fenbendazole dans les cinq élevages. Il s'agit d'une espèce peu prolifique, ce qui pourrait expliquer les valeurs des FECR des élevages 1 et 4, qui restent assez élevées. Les 2 autres espèces étudiées, même si elles sont présentes en grande quantité à J0, sont

complètement éliminées à J14 dans les élevages 3, 4 et 5, ce qui montre une bonne efficacité du fenbendazole. Ceci constitue un point positif à relever de cette étude, puisque c'est l'espèce la moins pathogène et la moins prolifique qui présente des résistances, alors que les 2 autres ne sont pas concernées.

Il faut néanmoins prendre les résultats de la PCR avec précaution. En effet, un petit nombre d'échantillons présentent un nombre total de larves très faibles (8 larves pour le groupe témoin de l'élevage 1 par exemple), les proportions qui en découlent ne sont pas forcément représentatives de la population.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Eichstadt ; 2017, où dans deux élevages sur 4 l'espèce retrouvée majoritairement était *T. colubriformis*. Seul un élevage avait les 3 espèces majeures de strongles digestifs qui présentaient une résistance au benzimidazole.

Pas de résistance aux lactones macrocycliques ?

Dans notre étude, les résultats pour les 5 élevages sont identiques : aucune résistance aux deux molécules testées de cette famille des lactones macrocycliques n'a été révélée. En effet, 14 jours après traitement, aucune excrétion n'a été mise en évidence. C'est un élément plutôt positif quand on voit le nombre croissant d'émergence de résistances à cette famille d'anthelminthique dans d'autres pays que la France tels que l'Irlande où sur plus de 1300 élevages, 24% présentaient une résistance aux lactones macrocycliques (Keane et al. 2014), mais aussi en Nouvelle Zélande où le taux de résistance allait de 24 à 36% pour l'ivermectine en fonction de la dose administrée (Waghorn et al, 2006). En France, dans d'autres études, un élevage de Corrèze parmi les 4 étudiés présentait des signes de résistance aux lactones macrocycliques (Eichstadt 2017) et deux cas de suspicion de résistance en Bretagne ont également été signalés (Tanguy 2011). De même, une autre étude menée dans les Hautes-Pyrénées a montré une résistance multiple de *H. contortus* aux Benzimidazoles et à l'ivermectine (Cazajoux et al., 2018). Cependant, ces résultats sont à interpréter avec précautions compte tenu de la faible prévalence de la résistance aux lactones macrocycliques en France. En effet, il est parfois observé des incohérences entre les résultats de FECRT effectués sur des prélèvements de terrain et de FECRT réalisés sur des prélèvements d'animaux infestés expérimentalement. Cependant, un cas de résistance à la moxidectine et l'ivermectine avéré a été rapporté en France, dans L'Allier, par Paraud et al, (2016), *T.circumcincta* était l'espèce résistante.

4.3.3 Limites de l'étude

Comme dit précédemment, la phase de développement des larves dans les échantillons a été effectuée à une température de 24°C. Mais on sait que les températures optimales de développement larvaire sont différentes pour chaque espèce de vers, et même si on a essayé de prendre une valeur de température intermédiaire, qui permettait le développement des 3 espèces recherchées, il est possible que le développement de certaines soit plus facile que d'autres et donc fausse les résultats.

Le degré d'infestation par les parasites n'était globalement pas très élevé dans les 5 élevages, ce qui a même conduit à l'élimination d'un 6ème élevage qui faisait partie de l'étude au départ. En prenant la précaution de ne garder que les brebis qui avaient une intensité d'excrétion supérieure à 150 opg, le nombre de brebis par lot était parfois assez faible et donc les résultats de FECR sont à prendre avec précaution.

Dans la littérature, plusieurs études rapportent des manipulations qPCR « Multiplex », soit des amorces et sondes complémentaires de différentes espèces dans un même puits de réaction (Roeber, Jex, et al. 2012). Avec notre outil de PCR temps réel, il n'a pas été possible dans le passé d'écarter les compétitions entre amorces et sondes quand elles sont toutes présentes dans le même puit, ce qui rend indétectable des espèces très minoritaires. Pour éviter cela, nous n'avons pratiqué que des qPCR « simplex », c'est à dire une seule espèce recherchée dans un seul puits de réaction PCR.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence la présence d'une résistance au fenbendazole dans 3 élevages ovins en région PACA sur les 5 étudiés. La présence de résistance à ce produit dans les 2 autres élevages de l'étude est suspectée. Les niveaux de résistance observés sont moins élevés que ceux observés dans des précédentes études effectuées dans le reste de la France, ce qui constitue un point positif. Néanmoins, il faut prendre en compte que l'espèce présentant une résistance ici est *Trichostrongylus colubriformis*, une espèce peu prolifique, ce qui donne des pourcentages de réduction d'oeufs qui restent assez élevés. Cette étude confirme la progression des résistances au benzimidazoles en France depuis plusieurs années.

Une seule espèce est concernée par la résistance au fenbendazole (*Trichostrongylus colubriformis*). Les autres, et notamment *Haemonchus contortus* qui est très pathogène, sont sensibles à toutes les molécules testées, ce qui est très positif pour la région.

Contrairement à ce qui a été observé dans d'autres régions françaises, en région PACA, les autres molécules (ivermectine, moxidectine) testées ont conservé leur efficacité pour le moment, ce qui laisse un large choix aux éleveurs pour traiter leurs animaux de manière efficace. Néanmoins, il faut raisonner leur utilisation pour éviter le développement de résistances à ces produits.

Malgré la résistance grandissante des Benzimidazoles, elle reste une famille d'anthelminthique fréquemment utilisée de nos jours. Le message adressé aux agriculteurs ne semble donc pas être perçu ou amené à destination. Une étude a révélé que l'expérience et les conseils passés par leur vétérinaire ou leur conseiller en agriculture étaient les principaux facteurs influençant le choix du produit anthelminthique (Patten et al, 2011). Il en va donc de notre devoir en tant que vétérinaires de sensibiliser les éleveurs aux résistances aux anthelminthiques et de leur proposer des utilisations raisonnées et adaptées de ces molécules.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Philippe JACQUIET**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Joëlle LAPORTE** intitulée « **Evaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans cinq élevages ovins allaitants de la région Provence Alpes Côte d'Azur** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 5 novembre 2018
Professeur Philippe JACQUIET
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse




Vu :
**La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse**
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Gérard CAMPISTRON



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

 **Le Président de l'Université Paul Sabatier**
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU


Régine ANDRE-OBRECHT

Mlle Joëlle LAPORTE
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 13/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 11/10/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Philippe JACQUIET**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Alexia FLUCK** intitulée « **Evaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans cinq élevages ovins allaitants de la région Provence Alpes Côte d'Azur** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 5 novembre 2018
Professeur **Philippe JACQUIET**
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN

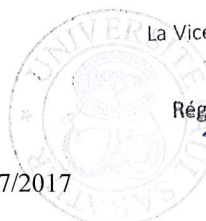
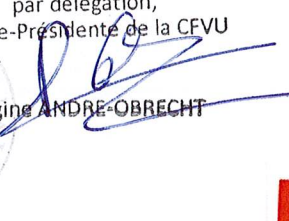
 

Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Gérard CAMPISTRON**



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

 
Régine ANDRE-OBRECHT

Mlle **Alexia FLUCK**
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 11/10/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

ABBOTT KA, TAYLOR M, & STUBBINGS LA (2009). Sustainable worm control strategies for sheep. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors , 16-17

ADJOU K (2013). Évaluation de l'état corporel des brebis : grille de notation. La Semaine Vétérinaire. N°1546, 46-47

AGUERRE S, JACQUIET P, BRODIER H, BOURNAZEL JP, GRISEZ C, PREVOT F, MICHOT L, FIDELLE F, ASTRUC JM & MORENO CR (2018) Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep : Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms. Veterinary parasitology , 256, 16-23

BAIRDEN K, ARMOUR J & DUNCAN JL (1995). A 4-year study of the effectiveness of alternate grazing of cattle and sheep in the control of bovine parasitic gastro-enteritis. Veterinary parasitology , 60 (1-2), 119-132

BESIER B, SMITH D, DOBSON R et KAHN L (2015) (Page consultée le 15 octobre 2018). Barbervax : a new approach to barber's pole worm control [en ligne], [http ://www.wormboss.com.au/news/article/management/barbervax-a-new-approach-to-barbers-pole-worm-control.php](http://www.wormboss.com.au/news/article/management/barbervax-a-new-approach-to-barbers-pole-worm-control.php)

BONNEFONT M, CANELLAS (2014). Optimisation des outils de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse, 133 p.

CABARET J, GONNORD V, CORTET J, SAUVÉ C, BALLEST J, TOURNADRE H et BENOIT M (2006). Indicators for internal parasitic infections in organic flocks : the diarrhea score (Disco) proposal for lambs. Organic Farming and European Rural Development , 552-553.

CAZAJOUS T, PREVOT F, KERBIRIOU A, MILHES M, GRISEZ C, TROPEE A, GODART C, ARAGON A, JACQUIET P (2018). Multiple-resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. *Veterinary Parasitology : Regional Studies and Reports* Volume 14 , 103-105.

COURS DE PARASITOLOGIE DE L'ENVT (page consultée le 19 Octobre 2018), Les strongyloses gastro-intestinales des ruminants [en ligne],
[http ://moodle3.envt.fr/course/view.php?id=59](http://moodle3.envt.fr/course/view.php?id=59)

CEPOQ, CENTRE D'EXPERTISE EN PRODUCTION OVINE DU QUEBEC (Page consultée le 20 aout 2018), Traitement sélectif du parasitisme, Indicateurs cliniques à surveiller [en ligne],
[http ://www.cepoq.com/admin/useruploads/files/fiche_1_outils_depistage_clinique_finale.pdf](http://www.cepoq.com/admin/useruploads/files/fiche_1_outils_depistage_clinique_finale.pdf)

COLES GC, BAUER C, BORGSTEEDE FHM, GEERTS S, KLEI TR, TAYLOR MA & WALLER PJ (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology* , 44 (1-2), 35-44.

COLES GC, JACKSON F, POMROY WE, PRICHARD RK, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, SILVESTRE A, TAYLOR MA, VERCROYSSSE J (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* , 136, 167-185

DENT JA, DAVIS MW & AVERY L (1997). *avr-15* encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans* . *The EMBO journal* , 16 (19), 5867-5879.

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON (page consultée le 24 Août 2018) “Strongles digestifs”, dans Coproscopie parasitaire , [en ligne]
[http ://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/diagnostic_par_especes/bovins/fiche_para/f_str_dig.htm](http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/diagnostic_par_especes/bovins/fiche_para/f_str_dig.htm)

EICHSTADT Maxime (2017). Evaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans quatre élevages ovins allaitants de Corrèze, Thèse de Doctorat

Vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, thèse n°4027, [en ligne] http://oatao.univ-toulouse.fr/18020/1/Eichstadt_18020.pdf (Page consultée le 08 Septembre 2018)

FALZO LC, O'NEILL TJ, MENZIES PI, PEREGRINE AS, JONES-BITTON A & MEDEROS A (2014). A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Preventive veterinary medicine* , 117 (2), 388-402.

GEARY TG, SIMS SM, THOMAS EM, VANOVER L, DAVIS JP, WINTERROWD CA, ... & THOMPSON DP (1993). *Haemonchus contortus* : ivermectin-induced paralysis of the pharynx. *Experimental parasitology* , 77 (1), 88-96.

GEURDEN T, HODGE A, NOÉ L, WINSTANLEY D, BARTLEY DJ, TAYLOR M, MORGAN C, FRASER SJ, MAEDER S, BARTRAM D (2012). The efficacy of a combined oral formulation of derquantel–abamectin against anthelmintic resistant gastro-intestinal nematodes of sheep in the UK. *Veterinary Parasitology* , 189, 308-316.

GEURDEN T, HOSTE H, JACQUIET P, TRAVERSA D, SOTIRAKI S, DI REGALBONO AF, ... & GIANGASPERO A (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Veterinary parasitology* , 201 (1-2), 59-66.

GREER AW, MCKENZIE JL, MCANULTY RW, HUNTLEY JF, & MCNEILLY TN (2018). Immune development and performance characteristics of Romney sheep selected for either resistance or resilience to gastrointestinal nematodes. *Veterinary parasitology* , 250 , 60-67.

HAFSI F, CHINA B, GHALMI F (2012). Le monepantel, un nouvel anthelminthique efficace contre les nématodes gastro-intestinaux des ovins. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 66-76.

HERNÁNDEZ JN, MEEUSEN E, STEAR M, RODRÍGUEZ F, PIEDRAFITA D & GONZÁLEZ JF (2017). Modulation of *Haemonchus contortus* infection by depletion of $\gamma\delta$ + T cells in parasite resistant Canaria Hair Breed sheep. *Veterinary parasitology* , 237 , 57-62.

HOSTE H, CHARTIER C (2002) Helminthoses des petits ruminants : les nouvelles perspectives de contrôle des helminthoses. *Le Point Vétérinaire*, 231, 101-104.

HUE T (2014) (Page consultée le 24 août 2018). Identification des parasites d'élevage : *Haemonchus contortus*. Les fiches techniques de l'Institut agronomique néo-calédonien , [en ligne] http://gaiac.iac.nc/opac_css/doc_num.php?explnum_id=1386

JACQUIET P (1997). Les strongles digestifs des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial « Parasitologie des ruminants » , 28, 20-21.

JACQUIET P, FIDELLE F, LEPETITCOLLIN E, PRIVAT S, GAILLAC C, BERGEAUD JP, HOSTE H (2014). Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* , 7, 29, 240-246.

JACQUIET P (2015). Comment rationaliser les traitements anthelminthiques en élevage ovin ? *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* , 8, 30.

KAMINSKY R, DUCRAY P, JUNG M, CLOVER R, RUFENER L, BOUVIER J, WEBER S, WENGER A, WIELAND-BERGHAUSEN S, GOEBEL T, GAUVRY N, PAUTRAT F, SKRIPSKY T, FROELICH O, KOMOIN-OKA C, WESTLUND B, SLUDER A, MÄSER P (2008). A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature* , 452, 176-180.

KAMINSKY R, BAPST B, STEIN P, STREHLAU GA, ALLAN BA, HOSKING BC, ROLFE PF, AGER H (2011). Differences in efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against multiresistant nematodes of sheep. *Parasitology Research* . 109, 1, 19-23.

KEANE OM, KEEGAN JD, GOOD B, DE WAAL T, FANNING J, GOTTSTEIN M, CASEY M, HURLEY C, SHEEHAN M (2014). High level of treatment failure with commonly used anthelmintics on Irish sheep farms. *Irish veterinary journal* , 67, 1, 1.

KÖHLER P (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal For Parasitology* , 31, 336-345.

KOTZE AC, PRICHARD RK (2016). Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus* . In : *Advances in Parasitology*, Elsevier , p. 397-428.

KNOX MR (2002). Effectiveness of copper oxide wire particles for *Haemonchus contortus* control in sheep. *Australian Veterinary Journal* , 80 (4), 224-227.

KNOX MR, BESIER RB, LE JAMBRE LF, KAPLAN RM, TORRES-ACOSTA JFJ, MILLER J & SUTHERLAND I (2012). Novel approaches for the control of helminth parasites of livestock VI : summary of discussions and conclusions. *Veterinary Parasitology* , 186 (1-2), 143-149.

LACEY E (1988). The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International journal for parasitology* , 18 (7), 885-936.

LAHLOU-KASSI A, TEMBELY S & BAKER R (1994). Résistance génétique des animaux aux maladies : cas de parasitoses gastro-intestinales chez les petits ruminants. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Biotechnologies du diagnostic et de la prévention des maladies animales. Paris (c) , 295-304.

LEFÈVRE PC, BLANCOU J, CHERMETTE R (2003). 105 - Helminthose digestive. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - Europe et régions chaudes . TEC & DOC. p. 1341-1342.

L'Enquête Pastorale 2012-2014 sur le Massif Alpin et les territoires pastoraux de Rhône-Alpes et Provence-Alpes-Côte d'Azur (Page consultée le 07 Septembre 2018) Les alpages à ovins dans le massif des Alpes , en ligne

http://enquete-pastorale.irstea.fr/to_download/poster_3_ovins.pdf

http://enquete-pastorale.irstea.fr/to_download/poster_1_domaine_pastoral.pdf

LITTLE PR, HODGE A, WATSON TG, SEED JA, MAEDER SJ (2010). Field efficacy and safety of an oral formulation of the novel combination anthelmintic, derquantel-abamectin, in sheep in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* , 58, 3, 121-129.

MAGE C (1998). L'Haemonchose. In : Parasites des moutons : Prévention, diagnostic, traitement, manuel pratique . p19-22

MAVROT F, HERTZBERG H & TORGERSON P (2015). Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance : a systematic review and meta-analysis. *Parasites & vectors* , 8

(1), 557.

MEDEROS AE, RAMOS Z, BANCHERO GE (2014). First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites & Vectors* , 7.

MILHES M, GUILLERM M, ROBIN M, EICHSTADT M, ROY C, GRISEZ C, ... & JACQUIET P (2017). A real-time PCR approach to identify anthelmintic-resistant nematodes in sheep farms. *Parasitology research* , 116 (3), 909-920.

MORGAN ER, CAVILL L, CURRY GE, WOOD RM, MITCHELL ESE (2005). Effects of aggregation and sample size on composite faecal egg counts in sheep. *Veterinary Parasitology* , 131, 79-87.

O'CONNOR LJ, WALKDEN-BROWN SW, KAHN LP (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology* , 142, 1-15.

PAPADOPOULOS E (2008). Anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Small Ruminant Research* , 76, 99-103.

PARAUD C, MARCOTTY T, LESPINE A, SUTRA JF, PORS I, DEVOS I (2016). Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. *Veterinary Parasitology* , 226, 88-92.

PATTEN T, GOOD B, HANRAHAN JP, MULCAHY G & DE WAAL T (2011). Gastrointestinal nematode control practices on lowland sheep farms in Ireland with reference to selection for anthelmintic resistance. *Irish veterinary journal* , 64 (1), 4.

PRICHARD R, MÉNEZ C, LESPINE A (2012). Moxidectin and the avermectins : Consanguinity but not identity. *International Journal for Parasitology : Drugs and Drug Resistance* , 2, 134-153.

ROEBER F, JEX AR, CAMPBELL AJD, NIELSEN R, ANDERSON GA, STANLEY KK, GASSER, RB (2012). Establishment of a robotic, high-throughput platform for the specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in sheep. *International Journal for Parasitology* , 42, 1151-1158.

ROEBER F, JEX AR, GASSER RB (2013b). Advances in the diagnosis of key gastrointestinal nematode infections of livestock, with an emphasis on small ruminants. *Biotechnology Advances* , 31, 1135-1152.

SOLI F, TERRILL TH, SHAIK SA, GETZ WR, MILLER JE, VANGURU M & BURKE JM (2010). Efficacy of copper oxide wire particles against gastrointestinal nematodes in sheep and goats. *Veterinary Parasitology* , 168 (1-2), 93-96.

TABEL Julie (2011). Alternatives au traitement chimiothérapeutiques des strongyloses gastro-intestinales des ovins : bilan et perspectives, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, thèse n°4002, [en ligne]

http://oatao.univ-toulouse.fr/4652/1/tabel_4652.pdf (Page consultée le 08 Septembre 2018)

TANGUY I (2011). Evaluation de la résistance des strongles digestifs aux anthelminthiques dans les élevages ovins de Bretagne , Thèse de doctorat.

TAYLOR MA, HUNT KR, GOODYEAR KL (2002). Anthelmintic resistance detection methods. *Veterinary Parasitology* , 103, 183–194.

TAYLOR M (2013). Anthelmintic Resistance and Worm Control in Sheep. In : Teagasc National Sheep Conference , 2013.

TEREFE G , LACROUX C , ANDREOLETTI O , GRISEZ C , PREVOT F , BERGEAUD JP , PENICAUD J , ROUILLON V , GRUNER L , BRUNEL JC , FRANCOIS D, BOUX J , DORCHIES P , JACQUIET P . (2007). Immune response and resistance to *Haemonchus contortus* in sheep Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. *Parasite Immunology* , 29, 415–424

TORRES-ACOSTA JFJ, HOSTE H (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research* , 77, 159-173.

VAN WYK JA, BATH G (2002). The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research* , 33,

509-529.

VAN WYK JA, MAYHEW E (2013). Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle : A practical lab guide. Onderstepoort Journal of Veterinary Research , 80.

VEILLET F (2001). Le closantel : synthèse bibliographique. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 105 p

WAGHORN TS, LEATHWICK DM, RHODES AP, LAWRENCE KE, JACKSON R, POMROY WE, ... & MOFFAT JR (2006). Prevalence of anthelmintic resistance on sheep farms in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal , 54 (6), 271-277.

WALLER PJ, DONALD AD, DOBSON RJ, LACEY E, HENNESSY DR, ALLERTON GR & PRICHARD RK (1989). Changes in anthelmintic resistance status of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* exposed to different anthelmintic selection pressures in grazing sheep. International Journal for Parasitology , 19 (1), 99-110.

ANNEXES

Annexe 1 - Calcul de l'intervalle de confiance à 95%

Moyenne arithmétique des FEC :

$$\overline{FEC} = \frac{\sum_j FEC_j}{n} \quad (4.3)$$

Variation d'un lot :

$$S^2 = \frac{\sum_j FEC_j^2 - \frac{(\sum_j FEC_j)^2}{n}}{n - 1} \quad (4.4)$$

Variation de réduction :

$$Y^2 = \frac{S_t^2}{n_t \overline{FEC}_t^2} + \frac{S_c^2}{n_c \overline{FEC}_c^2} \quad (4.5)$$

Borne inférieure de l'IC 95% :

$$100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} e^{(2.049 \times \sqrt{Y^2})} \right] \quad (4.6)$$

Borne supérieure de l'IC 95% :

$$100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} e^{(-2.049 \times \sqrt{Y^2})} \right] \quad (4.7)$$

Annexe 2 - Amorces et sondes PCR utilisées

	Référence	<i>Haemonchus contortus</i>	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
Amorce Forward	McNally et al. (2013)	TCAAGAACATATACATGCA (T _m = 62,9°C)	GTTCAAGAATAACATATGC (T _m = 62,9°C)	YAGTTYAAGAAAYATAYA (T _m = 60,9°C)
	LNA Forward Primer	CA +TATACATGCAAC +G (T _m = 54°C)	+CAGTT +CAAGAATAA +C (T _m = 51°C)	AATGGT +CATTRTCAA +A (T _m = 53°C)
Sonde	McNally et al. (2013)	TGACATGTATGGCGACGAT	CCGTCGTAACGTTCTGAAT	CCTGTATGATGTGAACGTGT
Amorce Reverse NC2	Gasser et al. (1993)	TTAGTTTCTTTTCTCCGCT (T _m = 54°C)		

+N : Locked Nucleic Acid

Annexe 3 - Exemple de plan de plaque

Plan de plaque											
	1	2	3	4	5	6	7	8	GAMME ETALON		
A	1.1.O	1.1.O	1.1.O	1.1.O	500	500	500	500	500	500	500
B	1.1.C	1.1.C	1.1.C	1.1.C	250	250	250	250	250	250	250
C	1.1.T	1.1.T	1.1.T	1.1.T	125	125	125	125	125	125	125
D	1.1.P	1.1.P	1.1.P	1.1.P	62	62	62	62	62	62	62
E	2.1.P	2.1.P	2.1.P	2.1.P	31	31	31	31	31	31	31
F	2.1.C	2.1.C	2.1.C	2.1.C	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
G	2.1.T	2.1.T	2.1.T	2.1.T	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG
H	2.1.O	2.1.O	2.1.O	2.1.O	TEXT GAMME	TEXT ECH	TEXT GAMME	TEXT ECH	TEXT GAMME	TEXT ECH	TEXT ECH

HEX

Haemonchus

Cy5

Teladorsagia

FAM

Trichostrongylus

Distribuer : 17,5 µL de Mix
2,5 µL d'ADN

échantillons (N)	16
Volume morts	2
Total	18

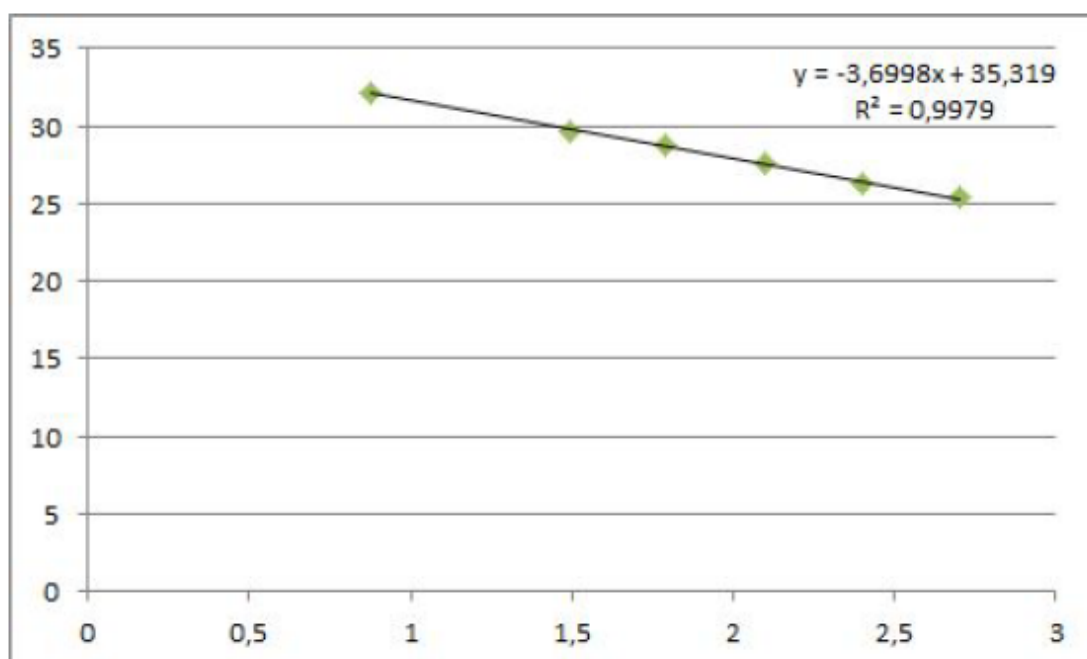
Mix HC : HCF-LNA / HCP
Mix Tela : TCF-LNA / TCP
Mix Tricho : TVF-LNA / TVP2

Préparation des Mix

Réactifs	Quantité (µl)	Duplicat	N =
Power Mix	10	20	360
Eau BSA	5,5	11	198
Amorce F (10µM)	0,5	1	18
NCR (10µM)	0,5	1	18
Sonde P (2µM)	1	2	36
Total	17,5	35	630

Annexe 4 - Exemple de courbe étalon

Haemonchus contortus				
Larves	Log(larves)	Ct 1	Ct 2	Moyenne
7,5	0,87506126	31,92	32,27	32,095
31	1,49136169	29,68	29,71	29,695
62	1,79239169	28,66	29	28,83
125	2,09691001	27,64	27,55	27,595
250	2,39794001	26,26	26,32	26,29
500	2,69897	25,43	25,38	25,405



Annexe 5 - Résultats des coprologies de l'élevage 1

Nom des groupes	Numéros des brebis	Coprologie J0	Coprologie J14
Groupe témoins	10086	75	90
	10774	150	120
	20612	105	60
	30164	105	165
	30191	75	120
	40101	225	75
	40140	300	210
	90027	75	45
	90062	690	315
	90081	405	315
Groupe Panacur	11108	255	0
	20637	450	30
	20642	120	0
	30025	30	15
	30068(560)	45	15
	50146	165	15
	70081	330	15
	80060	345	30
	80061	120	15
	90009	60	0
Groupe Oramec	00048	135	0
	00075	195	0
	10117	660	0
	10798	15	0
	20626	150	0
	40199	225	0
	40288	90	0
	50073	150	0
	80121	75	0
	90073	60	0
Groupe Cydectine	10915	60	0
	20623	45	0
	20625	75	0
	20632	15	0
	30074	15	0
	30068(120)	195	0
	50107	375	0
	90080	600	0
	90092	255	0

Annexe 6 - Résultats des coprologies de l'élevage 2

Nom des groupes	Numéros des brebis	Coprologie J0	Coprologie J14
Groupe témoins	71027	240	180
	71033	1050	630
	71034	210	360
	71072	150	180
	71154	405	285
	71161	435	300
	71299	595	345
	71310	600	450
	71349	135	255
	71351	450	360
Groupe Panacur	71008	180	30
	71010	135	75
	71028	450	225
	71052	60	60
	71078	240	150
	71160	315	105
	71177	120	45
	71210	255	165
	71244	1275	525
	71251	390	135
Groupe Oramec	71019	30	0
	71044	870	0
	71064	270	0
	71135	165	0
	71162	165	0
	71176	270	0
	71211	90	0
	71290	255	0
	71297	75	0
	71324	375	0
Groupe Cydectine	71002	765	0
	71056	315	0
	71066	510	0
	71079	180	0
	71081	210	0
	71100	540	0
	71231	120	0
	71240	450	0
	71323	360	0

Annexe 7 - Résultats des coprologies de l'élevage 3

Nom des groupes	Numéros des brebis	Coprologie J0	Coprologie J14
Groupe témoins	00212	960	600
	40020	255	195
	50711	30	45
	55215	225	255
	61794	120	240
	61822	105	90
	65317	645	900
	75125	555	900
	70256	1530	615
	00212	960	600
Groupe Panacur	55032	540	600
	55342	210	195
	61811	60	45
	61820	0	255
	65010	150	240
	65166	270	90
	71089	195	900
	75114	135	900
	50560	45	615
	55301	195	45
Groupe Oramec	65182	225	0
	65343	420	0
	65386	75	0
	71324	30	0
	75106	300	30
	75131	120	0
	00397	570	0
	20387	255	0
	40006	120	0
	50562	60	0
Groupe Cydectine	50595	150	0
	55046	315	0
	55352	15	0
	75129	510	0
	55032	540	0
	55342	210	0
	61811	60	0
	61820	0	0
	65010	150	0

Annexe 8 - Résultats des coprologies de l'élevage 4

Nom des groupes	Numéros des brebis	Coprologie J0	Coprologie J14
Groupe témoins	19007	225	30
	19036	135	210
	19068	75	90
	29007	285	270
	29023	300	210
	39029	105	240
	39030	615	360
	39038	180	180
	39042	150	240
	39075	45	165
Groupe Panacur	09052	165	0
	19023	345	0
	19067	180	60
	29025	30	0
	29031	450	15
	29062	75	0
	39007	150	75
	39021	195	15
	59016	135	0
	59100	165	0
Groupe Oramec	9061	390	0
	19004	60	0
	19054	150	0
	19060	570	0
	39032	105	0
	39067	180	0
	49017	435	0
	49048	465	0
	59009	225	0
	59057	255	0
Groupe Cydectine	19007	225	30
	19036	135	210
	19068	75	90
	29007	285	270
	29023	300	210
	39029	105	240
	39030	615	360
	39038	180	180
	39042	150	240

Annexe 9 - Résultats des coprologies de l'élevage 5

Nom des groupes	Numéros des brebis	Coprologie J0	Coprologie J14
Groupe témoins	10265	240	240
	11181	0	0
	30262	135	330
	30357	195	150
	40214	240	60
	50052	612	285
	50260	408	180
	62085	195	270
	80008	660	450
	80609	30	60
Groupe Panacur	00156	525	15
	00648	600	0
	11185	120	0
	20046	30	15
	21125	120	0
	40260	300	0
	40300	315	0
	40610	480	0
	50084	45	0
	57231	0	0
Groupe Oramec	10263	90	0
	10267	210	0
	20004	300	0
	30102	225	0
	30274	255	0
	40182	300	0
	40274	165	0
	50242	210	0
	60113	330	0
	60303	600	0
Groupe Cydectine	00019	270	0
	20178	150	0
	30264	690	0
	30282	0	0
	40142	390	0
	40229	165	0
	50184	180	0
	50873	0	0
	60154	420	0

Annexe 10 : Moyennes et écarts types des coprologies des 5 élevages à J0

Numéro d'élevage/Groupe	Moyenne	Ecart type	Médiane	Valeur haute	Valeur basse
1/T	354	210,2	300	690	150
1/P	309	106,4	330	450	165
1/O	276	217	195	660	150
1/C	333	163,4	255	600	195
2/T	459,4	273,1	435	1050	150
2/P	443,6	378	315	1275	180
2/O	338,6	245,1	270	870	165
2/C	406,7	182,1	360	765	180
3/T	695	490,7	600	1530	225
3/P	273	155,3	210	540	150
3/O	285	100,3	262,5	420	195
3/C	360	175,9	315	570	150
4/T	292,5	168,3	255	615	150
4/P	235,7	115,4	180	450	150
4/O	333,75	152,1	322,5	570	150
4/C	201	65,9	180	315	150
5/T	364,3	199,5	240	660	195
5/P	444	131,9	480	600	300
5/O	288,3	128,3	255	600	165
5/C	339,4	185,4	330	690	150

Annexe 11 : Moyennes et écarts types des coprologies des 5 élevages à J14

Numéro d'élevage/Group e	Moyenne	Ecart type	Médiane	Valeur haute	Valeur basse
1/T	207	109,9	210	315	75
1/P	18	12,5	15	30	0
1/O	0	0	0	0	0
1/C	0	0	0	0	0
2/T	343,3	138,2	345	630	180
2/P	190,7	158,9	150	525	30
2/O	0	0	0	0	0
2/C	0	0	0	0	0
3/T	577,5	303,4	607,5	900	195
3/P	12,5	21,2	0	45	0
3/O	0	0	0	0	0
3/C	0	0	0	0	0
4/T	184,3	109,7	225	360	30
4/P	23,6	31	15	75	0
4/O	0	0	0	0	0
4/C	0	0	0	0	0
5/T	204,4	123	240	450	60
5/P	2,5	6,7	0	15	0
5/O	0	0	0	0	0
5/C	0	0	0	0	0

Annexe 12 : Récapitulatif des résultats PCR des coprologies de mélange des différents élevages

Echantillon	J	Date	Résultat PCR				Espèce résistante
			% HC	% TELA	% TRICHO	Nb L3 Totale	
1.1.O	0	10/11/2017	16,7	13,3	70,0	30	
1.2.O	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
1.1.C	0	10/11/2017	74,3	17,1	8,6	35	
1.2.C	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
1.1.T	0	10/11/2017	0	62,5	37,5	8	
1.2.T	14	27/10/2017	21,0	16,6	62,4	319	
1.1.P	0	10/11/2017	32,1	30,2	37,7	53	
1.2.P	14	27/10/2017	8,7	0,0	91,3	69	TRICHO
2.1.P	0	10/11/2017	0,0	1,6	98,4	450	
2.2.P	14	27/10/2017	0	0,5	99,5	365	TRICHO
2.1.C	0	10/11/2017	0,0	1,2	98,8	660	
2.2.C	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
2.1.T	0	10/11/2017	13,0	0,0	87,0	77	
2.2.T	14	27/10/2017	0	1,0	99,0	418	
2.1.O	0	10/11/2017	0,0	6,4	93,6	887	
2.2.O	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
3.1.P	0	10/11/2017	1,9	35,0	63,1	474	
3.2.P	14	27/10/2017	0	0	100	17	TRICHO
3.1.O	0	10/11/2017	0,0	35,3	64,7	51	
3.2.O	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
3.1.C	0	10/11/2017	1,9	13,5	84,6	52	
3.2.C	14	27/10/2017	0	0	0	0	AUCUNE
3.1.T	0	10/11/2017	4,6	62,9	32,6	307	
3.2.T	14	27/10/2017	0,0	28,2	71,8	78	
4.1.P	0	28/10/2017	0,0	51,3	48,7	76	
4.2.P	14	11/11/2017	0	0	100	28	TRICHO
4.1.O	0	28/10/2017	0,0	12,3	87,7	81	
4.2.O	14	11/11/2017	0	0	0	0	AUCUNE
4.1.C	0	28/10/2017	0,0	18,3	81,7	241	
4.2.C	14	11/11/2017	0	0	0	0	AUCUNE
4.1.T	0	28/10/2017	3,8	17,3	78,8	52	
4.2.T	14	11/11/2017	0,0	46,2	53,8	39	
6.1.P	0	28/10/2017	19,4	71,8	8,8	1222	
6.2.P	14	11/11/2017	0	0	100	7	TRICHO
6.1.T	0	28/10/2017	11,5	55,5	33,1	366	
6.2.T	14	11/11/2017	51,3	42,5	6,3	160	
6.1.O	0	28/10/2017	13,7	56,9	29,4	805	
6.2.O	14	11/11/2017	0	0	0	0	AUCUNE
6.1.C	0	28/10/2017	11,1	55,3	33,7	1393	
6.2.C	14	11/11/2017	0	0	0	0	AUCUNE

Annexe 13 : Principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro-intestinaux chez les ovins

Famille	Molécules	Spectre d'action	Posologie	Restrictions
Benzimidazoles	Oxfendazole	SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa	VO 5 mg/kg, un bolus/jour	Délai d'attente lait : 8j
	Fenbendazole	SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa	VO 5 mg/kg, un bolus/jour	Délai d'attente lait : 8.5j
	Fébantel	SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa	VO 5 mg/kg	Délai d'attente lait : 6.5j
	Albendazole	SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa	VO 3.8 mg/kg	Interdit en lactation Pas dans le 1 ^{er} tiers de la gestation
		Idem + Fasciola hepatica	VO 7.5 mg/kg	
		Idem + Fasciola hepatica, Dicrocoelium lanceolatum	VO 15 mg/kg	
	Mébendazole (associé au closantel)	SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa, Fasciola hepatica, Oestrus ovis	VO 5 mg/kg	Association interdite en lactation et au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
	Nétobimin	SGI, Dictyocaulus filaria	VO 7.5 mg/kg	Délai d'attente lait : 5j Pas dans le 1 ^{er} tiers de la gestation
		SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa, Fasciola hepatica, Dicrocoelium lanceolatum	VO 20 mg/kg	
Imidazothiazoles	Lévamisole	SGI, Dictyocaulus filaria (Adultes)	IM 7.5 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et 2 mois avant le 1 ^{er} agnelage
		SGI, Dictyocaulus filaria (Adultes), Fasciola hepatica (Adultes et larves)	VO 6.4 mg/kg avec Triclabendazole 10 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
Lactones macrocycliques	Ivermectine	SGI, Dictyocaulus filaria, Oestrus ovis	VO 0.2 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et 28j avant le 1 ^{er} agnelage
		SGI, Dictyocaulus filaria, Oestrus ovis, Psoroptes ovis, Sarcoptes scabiei, Melophagus ovinus	VO 0.2 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et 21j avant le 1 ^{er} agnelage
	Doramectine	SGI, Dictyocaulus filaria, Oestrus ovis, Psoroptes ovis	IM 0.2 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et 70j avant le 1 ^{er} agnelage
	Eprinomectine	SGI, Oestrus ovis	PO 0.5 mg/kg	Délai d'attente lait : 0j
		SGI, Oestrus ovis	Injectable 0.2 mg/kg	Délai d'attente : forfaitaire de 5 jours car pas encore d'AMM
	Moxidectine	SGI, Dictyocaulus filaria	VO 0.2 mg/kg	Délai d'attente lait : 5j
		SGI, Dictyocaulus filaria, Oestrus ovis, Psoroptes ovis	Cyductine® 1% : 0,2 mg/kg SC	interdit 2 mois avant l'agnelage, en lactation et au tarissement
			Cyductine® LA 2% : 1 mg/kg SC base de l'oreille	Interdit chez les femelles laitières à tout stade
Salicylanilides	Closantel	SGI hématophages, Fasciola hepatica (Adultes et larves), Oestrus ovis	VO, SC 10 mg/kg	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
		SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa (Adultes et larves), Oestrus ovis	VO 10 mg/kg avec Oxfendazole 5 mg/kg	
		SGI, Dictyocaulus filaria, Moniezia expansa, Fasciola hepatica (Adultes et larves), Oestrus ovis	SC 10 mg/kg avec ivermectine 0.2 mg/kg	
	Nitroxinil	SGI hématophages, Fasciola hepatica (Adultes et larves), Oestrus ovis	SC	
Dérivés aminoacétonitrile	Monepantel	SGI	VO 2.5 mg/kg	Interdit chez les femelles laitières à tout stade
Spiroindoles	Derquantel (+ Abamectine)	SGI, Dictyocaulus filaria	VO 2 mg/kg (+ 0.2 mg/kg)	Interdit chez les femelles laitières à tout stade

TITRE : EVALUATION DE LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX AUX ANTHELMINTHIQUES DANS QUATRE ELEVAGES OVINS ALLAITANTS DE CORREZE

RESUME : Une évaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux au fenbendazole, à l'ivermectine et à la moxidectine a été effectuée dans 5 élevages ovins de la région PACA, à l'aide du test de réduction de l'excrétion fécale des oeufs (FECRT). Trois élevages présentent des résistances au fenbendazole et deux autres sont suspects d'en avoir. Aucune résistance à l'ivermectine ou à la moxidectine n'a été observée. Pour chaque individu, un comptage au microscope des oeufs a été entrepris puis une identification des larves par qPCR a été effectuée pour chaque lot. D'après ces résultats, *T. colubriformis* est l'espèce majoritairement responsable du phénomène de résistance au fenbendazole, et, dans un élevage, *H. contortus* est suspecté de présenter aussi une résistance au fenbendazole. A la lumière de ces résultats partiels, il semblerait que la situation de la région PACA en termes de résistance aux anthelminthiques ne soit pas aussi critique que dans d'autres régions, mais il faut rester vigilant et utiliser ces produits de manière raisonnée.

MOTS-CLES : STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX, NEMATODES, OVINS, TRAITEMENT, ANTHELMINTHIQUE, RESISTANCE, FENBENDAZOLE, IVERMECTINE, MOXIDECTINE, IDENTIFICATION, MORPHOLOGIQUE, MOLECULAIRE, PCR, CORREZE

TITLE : EVALUATION OF THE ANTHELMINTHIC RESISTANCE OF GASTROINTESTINAL NEMATODES IN FOUR MEAT SHEEP FARMS IN THE DEPARTMENT OF CORREZE

An evaluation of the resistance of gastrointestinal strongyles to fenbendazole, ivermectin and moxidectin in 5 sheep farms in the PACA region has been done with the fecal excretion test of eggs (FECRT). Three farms showed resistance to fenbendazole and two others are suspected of being. No resistance to ivermectin or moxidectin has been observed. For each individual, a microscope count of the eggs was undertaken and then a larval identification by real time PCR was performed for each lot. According to these results, *Trichostrongylus colubriformis* was the species mainly responsible for the phenomenon of resistance to fenbendazole, and in a farm, *Haemonchus contortus* was suspected to be also resistant to fenbendazole. The situation of the PACA region in terms of resistance to anthelmintics is not yet critical, but remaining vigilant in using these products in a reasonable manner seems necessary.

KEY WORDS : GASTROINTESTINAL NEMATODES, STRONGYLID, SHEEP, TREATMENT, ANTHELMINTHIC, RESISTANCE, FENBENDAZOLE, IVERMECTINE, MOXIDECTINE, IDENTIFICATION, MORPHOLOGICAL, MOLECULAR, PCR, CORREZE